

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche

Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منوروي كلية علوم الطبيعة
والحياة

قسم : Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

N° d'ordre :

N° Série :

Intitulé :

Etude mycochimique et évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne *in vitro* du champignon basidiomycètes *Pholiota carbonaria* d'Algérie

Présenté par : ARAB Imane
BENADJIBA Ouïam

la date : 22/06/2025

Jury d'évaluation :

Présidente : Dr. OUELBANI R. (MCB - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Encadrant : Dr. TOUMI M.E.S. (MCB - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Examinatrice : Dr. AYACHE A. (MCB - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Année universitaire 2024 - 2025

Remerciement

ouange à **Allah**, Le Très Miséricordieux, Le Tout-Puissant, qui nous a accordé la force, la santé, la patience et la volonté nécessaires pour mener à bien ce travail. C'est grâce à Sa guidance que nous avons pu franchir chaque étape de ce mémoire avec foi et détermination.

Nous exprimons notre gratitude la plus profonde à notre encadreur, **Dr Toumi Mouhammed Es seddik**, pour sa confiance, sa disponibilité constante, sa rigueur scientifique et son accompagnement attentif tout au long de ce travail. Son soutien, ses conseils éclairés et ses encouragements ont été pour nous une source de motivation et un véritable moteur pour l'aboutissement de ce mémoire. Qu'il trouve ici l'expression de notre sincère reconnaissance et de notre profond respect.

Nos remerciements s'adressent également à **Dr OUELBANI R** et **Dr AYACHE A**, membres du jury, pour l'honneur qu'elles nous ont fait en acceptant d'évaluer notre travail. Leurs remarques et suggestions pertinentes contribueront, sans nul doute, à notre enrichissement scientifique.

Nous remercions chaleureusement l'ensemble des membres du **Laboratoire de Génie Microbiologique et Applications (LGMA)** de l'**Université Frères Mentouri Constantine 1**, pour leur accueil, leur encadrement technique, leur disponibilité et leur collaboration précieuse tout au long de notre parcours.

Nos sincères remerciements vont aussi à **Riham Benmaiza**, déléguée de notre promotion, pour son engagement, sa gentillesse, son sens de l'organisation et son soutien tout au long de cette année.

Enfin, nous adressons tout notre amour et notre reconnaissance à nos **familles respectives**, en particulier à nos **chers parents** et à nos **frères**, pour leur patience, leur affection, leurs prières et leur soutien moral indéfectible. Leur présence à nos côtés a été essentielle dans notre réussite.

À toutes celles et tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail, nous disons un grand **merci**.

Dédicaces

Ce travail est dédié

À Papa et Mama,

*Deux âmes nobles qui m'ont transmis les valeurs les plus profondes : l'honnêteté, le respect,
la persévérance et la foi.*

*Vous n'êtes plus là pour voir ce travail aboutir, mais chaque page de ce mémoire porte
l'empreinte de votre amour et de vos sacrifices.*

*Je vous dois la vie, l'éducation et le courage de toujours avancer, même dans l'adversité.
Que le Tout-Puissant vous entoure de Sa lumière éternelle et vous accorde Sa paix infinie.*

À toi, mon frère Ahmed,

*Ton soutien silencieux mais toujours présent, ton écoute, ta tendresse fraternelle ont été pour
moi une force précieuse.*

*Dans chaque étape difficile, ton regard plein de confiance m'a rappelé que je n'étais jamais
seul.*

Merci d'être ce pilier stable sur lequel je peux toujours compter.

À Dr Mouhammed Es Seddik Toumi,

Merci de m'avoir guidé avec rigueur, patience et bienveillance.

*Votre encadrement m'a permis de progresser avec méthode et de développer un esprit
scientifique plus clair et plus solide.*

*Votre confiance et vos conseils avisés ont fait de cette étape une véritable expérience de
croissance.*

Recevez ici toute ma gratitude et mon profond respect.

À ma famille tout entière,

Merci pour vos prières, votre affection et votre présence, même discrète.

*Chacun de vous, à sa manière, m'a aidé à franchir les obstacles et à croire en moi.
Ce mémoire est aussi le vôtre.*

Ouiam

Dédicaces

Ce travail est dédié à :

À mon père « Hacene »,

le seul homme qui a le droit de dire qu'il est un véritable partenaire de ma réussite. Ta force, ton engagement et ta présence ont tracé un chemin sûr pour mes pas.

À ma mère « Farida »,

le mur solide sur lequel je m'appuie lorsque je faiblis, lorsque tout semble s'effondrer. Ta tendresse m'a relevé, ton amour m'a porté.

À mes frères « Charif , Zakaria , Hichame , Abdallahe »

pour leur affection, leur appui silencieux, et cette fraternité sincère qui m'a toujours entouré.

À mon encadreur, Monsieur Toumi,

pour sa disponibilité, ses conseils éclairés et son accompagnement constant, que je n'oublierai jamais.

À la mémoire de la défunte épouse de mon frère « Wahiba »,

*dont le corps nous a quittés, mais dont l'âme bienveillante n'a cessé de nous accompagner. Je prie Dieu de lui accorder une place honorable dans les jardins du Paradis, si Dieu le veut.
Qu'Il l'enveloppe de Sa lumière et de Sa miséricorde.*

À mes amis et à toute ma famille,

qui, de près ou de loin, ont contribué à mon cheminement par leur présence, leurs encouragements ou leurs prières.

Merci à chacun d'entre vous. Cette réussite est aussi un peu la vôtre

Imane

Résumé:

Cette recherche vise à mettre en avant les bienfaits des champignons en Algérie, notamment le « *Pholiota carbonaria* », par l'étude et la caractérisation de leur mycochimie, ainsi que par l'évaluation de leurs activités biologiques. L'analyse mycochimique a mis au jour les métabolites secondaires majeurs, comme les polyphénols et les anthocyanes, ainsi que des alcaloïdes et des tanins.

Elle a étudié l'extraction de ces composés dans des solvants chimiques, à savoir : l'eau et le méthanol (méthanol/eau : hydro-méthanol ; 80/20 v/v). Ensuite, un fractionnement a été réalisé avec les quatre solvants de polarités différentes (l'eau, l'acétate d'éthyle, le chloroforme, le n-butanol).

L'analyse du contenu en polyphénols indique que l'extrait Acétate d'éthyle (Ext-AcEt) présente les concentrations les plus élevées en substances bioactives ($33,56 \pm 8,21$ µg EAG/mg Ext). Cela est suivi par les extraits chloroformique, aqueux et butanolique ($28,82 \pm 3,77$ µg EAG/mg Ext, $5,07 \pm 0,92$ µg EAG/mg Ext et $5,21 \pm 2,24$ µg EAG/mg Ext respectivement). Le dosage par la méthode d'Aluminium trichlorure a montré l'absence des flavonoïdes dans les extraits.

L'analyse du potentiel antioxydant in vitro des quatre extraits via des techniques colorimétriques (DPPH•, FRAP) a démontré une activité antioxydante significative pour tous les extraits. Toutefois, l'extrait qui présente l'activité antioxydante la plus élevée est l'Ext-AcEt, avec une concentration inhibitrice de 50% du DPPH (IC_{50}) de $653,74 \pm 31,74$ µg/ml au DPPH• et une concentration qui coorespond à une absorbance de 0,5 ($C_{A0,5}$) de $70,46 \pm 6,65$ µg/m pour le test FRAP.

Concernant l'effet antibactérien, les extraits n'ont pas montré de réaction d'inhibition vis-à-vis des souches testées, quant à pour l'extrait de n-butanolique qui a produit une réponse inhibitrice estimée à environ 9.67 ± 1.53 mm contre la bactérie *Escherichia coli*.

Mots clés: *Pholiota carbonaria* , le potentiel antioxydant in vitro , l'effet antibactérienne

ملخص:

يسعى هذا البحث إلى تسليط الضوء على فوائد الفطريات في الجزائر، وخاصة « *Pholiota carbonaria* »، من خلال دراسة وتوصيف كيميائها، وكذلك من خلال تقييم لُطَظَهم المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا والبيولوجية. كُفَ تحليل الكيمياء النباتية المستطيلة الثنوية الرئيسية، مثل البوليفينول والأشويجان، وكذلك فُريدات وعفص.

درست استخراخ هذه المركبات في المنقيات الكيميائية، وهي: الماء والميثانول (الميثانول/الماء: هيدرو ميثانول؛ 20/80 فولت/ت). بعد ذلك، تم تنفيذ تجزئة مع المنقيات الأربعة من الأقطاب المختلفة (الماء، أسيتات إيثيل، الكلوروفورم، N-butanol).

يُشير تحليل محتوى البوليفينول إلى أن مستخلص أسيتات الإيثيل له أعلى تركيزات في المواد النشطة بيولوجيًا (8.21 ± 33.56 ميكروغرام EXT/EAG/MG). وبلي ذلك كلوروفورم، مستخلصات مائية وبيوتنول (77.3 ± 28.82 ميكروغرام).

mg Ext/ EAG EAG/mg Ext، 92.507 ± 0 ميكروغرام mg Ext/ EAG و 2.24 ± 5.21 ميكروغرام mg Ext/ EAG. أظهرت الجرعة بواسطة طريقة الألمنيوم ثلاثي كلوريد عدم وجود فلافونويد في المستخلصات.

أظهر تحليل الإمكانيات المضادة للأكسدة في المختبر لأربعة مستخلصات عبر تقنيات اللونية (• DPPH، FRAP) نشاطًا كبيرًا مضاد للأكسدة لجميع المستخلصات. ومع ذلك، فإن المستخلص الذي يعرض أعلى نشاط مضاد للأكسدة هو Ext-AcEt.

مع تركيز مثبت من 50 % من DPPH (IC_{50}) من 653.74 ± 31.74 ميكروغرام /مل إلى DPPH • وتركيز يتوافق مع امتصاص 0.5 ($C_{A0.5}$) من 70.46 ± 6.65 ميكروغرام /مل في اختبار Frap.

فيما يتعلق بالتأثير المضاد للبكتيريا، لم تُظهر المستخلصات تفاعل تثبيط على جذوعها التي تم اختبارها، باستثناء مستخلص n-butanolic الذي أنتج استجابة مثبطة تقدر بنحو 1.53 ± 9.67 مم ضد البكتيريا *Escherichia coli*.

الكلمات المفتاحية: *Pholiota carbonaria*، إمكانيات مضادات الأكسدة في المختبر، التأثير المضاد للبكتيريا.

Abstract

Abstract:

This research seeks to highlight the benefits of fungi in Algeria, in particular the “*Pholiota carbonaria*”, by the study and characterization of their mycochemistry, as well as by the evaluation of their antioxidant, antibacterial and biological activities. Chemical analysis has uncovered major secondary metabolites, such as polyphenols and anthocyanins, as well as alkaloids and tannins.

She studied the extraction of these compounds in chemical solvents, namely: water and methanol (methanol/water: hydro-methanol; 80/20 V/V). Then, a fractionation was carried out with the four solvents of different polarities (water, ethyl acetate, chloroform, N-Butanol).

The analysis of polyphenols content indicates that the ethyl acetate extract (AcEt-Ext) has the highest concentrations in bioactive substances ($33,56 \pm 8,21 \mu\text{g EAG/mg Ext}$). This is followed by chloroform, aqueous and butanolic extracts ($28,82 \pm 3,77 \mu\text{g EAG/mg Ext}$, $5,07 \pm 0,92 \mu\text{g EAG/mg Ext}$ and $5,21 \pm 2,24 \mu\text{g EAG/mg Ext}$). The dosage by the trichloride aluminum method has shown the absence of flavonoids in the extracts.

Analysis of the in vitro antioxidant potential of four extracts via colorimetric techniques (DPPH •, FRAP) has demonstrated a significant antioxidant activity for all extracts. However, the extract which presents the highest antioxidant activity is the AcEt-Ext, with an inhibitory concentration of 50% of the DPPH (IC_{50}) as $653,74 \pm 31,74 \mu\text{g/ml}$ and a concentration corresponds to an absorbance of 0,5 ($\text{CA}_{0,5}$) of $70,46 \pm 6,65 \mu\text{g/m}$ for the FRAP test.

Regarding the antibacterial effect, the extracts have not shown an inhibition reaction to the stumps tested, except for the n-butanolic extract which produced an inhibitory response estimated at around $9,67 \pm 1,53 \text{ mm}$ against the bacteria *Escherichia coli*.

Keywords: *Pholiota carbonaria*, antioxidant potential in vitro, antibacterial effect.

Abréviations

ACE	Enzyme de conversion de l'angiotensine
ADN	Acide désoxyribonucléique
AlCl ₃	Chlorure d'aluminium
ARN	Acide ribonucléique
ATP	Adénosine Triphosphate
A _{0,5}	Concentration de l'échantillon test qui permet d'obtenir 50 % de l'effet maximal
CAT	Catalase
C ₂ H ₃ NaO ₂	Acétate de sodium
ClO ⁻	Ion hypochlorite
Cu	Cuivre
DPPH	2,2-Déphenyl-1-picrylhydrazyl
EAG	Equivalent en acide gallique
EOA	Espèces réactives de l'oxygène
ERN	Espèces réactives de l'azote
Ext AcEt	Extrait acétate d'éthyle
Ext Aq	Extrait aqueux
Ext Chloro	Extrait chloroformique
Ext n but	Extrait n butanolique
FADH	Flavine adénine dinucléotide réduit
FCR	Réactif Folin-Ciocalteu
FeCl ₃	Chlorure de fer
FRAP	Ferric ion Reducing Antioxidant Power
FT	Flavonoïdes totaux
HCl	Chlorure d'hydrogène
HO ₂ •	Hydroperoxyde
H ₂ O	Eau
H ₂ O ₂	Peroxyde d'hydrogène
H ₂ SO ₄	Acide sulfurique
IC ₅₀	Concentration Inhibitrice à 50 %
GR	Glutathion réductase
GPX	Glutathion peroxydase

Abréviations

GSH	Glutathion réduit
K ₃ Fe(CN) ₆	Potassium ferricyanide
MeOH	Alcool méthylique
Mn	Manganèse
Myco DP	Mycology Data Base
NADH	Nicotinamide adénine dinucléotide
NADPH	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
Na ₂ CO ₃	Carbonate de sodium
NH ₄ OH	Ammoniaque
NO.	Monoxyde d'azote
NOX	NADPH oxydases
OH.	Radical hydroxyle
O ₂	Oxygène moléculaire
O ₂ .	Superoxyde
1O ₂	Oxygène singulet
O ₃	Ozone
ONOOH	Nitroperoxyde
PT	Polyphénols totaux
RO ₂ •	Peroxyde
RO.	Alcoxyle
ROS	Espèces réactives à l'oxygène
SE	Sélénium
SOD	Dismutases de superoxyde
SRL	Lectine de <i>S. rugosoannulata</i>
TCA	Acide trichloroacétique
VIH	Virus de l'Immunodéficience Humaine
Zn	Zinc

Liste des figures

Figure	Légende	Page
1	Les quatre étapes de la réduction de l'oxygène et la formation des Intermédiaires partiellement réduits	6
2	Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliquée en biologie	9
3	Cycle d'élimination de H ₂ O ₂ par le GSH	11
4	La place centrale du stress oxydant au sein des pathologies	14
5	Représente deux espèces de la famille Strophariaceae, à gauche l'espèce <i>Gymnopilus spectabilis</i> ; à droite, l'espèce <i>Pholiota limonella</i> .	17
6	Représente la structure 3D de lectine SRL de <i>S. rugosoannulata</i>	21
7	Représente le champignon <i>Pholiota carbonaria</i>	23
8	Champignon <i>Pholiota carbonaria</i> collecté au niveau de la forêt de Chetaba- Constantine.	28
9	Évaporation du solvant à l'aide d'un évaporateur rotatif	29
10	Extractions liquide-liquide et séparation de deux phases : organique et aqueuse.	30

Liste des figures

11	Mécanisme de réaction du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) avec l'antioxydant	35
12	Le mécanisme de réaction du potassium ferricyanide $[K_3Fe(CN)_6]$ dans le test du pouvoir réducteur du Fe^{+3} par un antioxydant	37
13	Présente les courbes d'étalonnage utilisées dans le calcul de TP et TF : a- courbe d'acide gallique ; b- Courbe de la rutine.	45
14	Carte thermographique de l'activité antioxydante (%) des extraits et l' α -Tocophérol en fonction de la concentration. Les données sont présentées sous forme de moyennes \pm ET (n = 3). Anova à 2 facteurs a réalisé avec $p < 0.05$.	48
15	Carte thermographique du pouvoir réducteur du fer (FRAP) en fonction de la concentration des extraits	50
16	les resultats d'activites antibactérienne des extraits (Ext-Chloro(A) ; Ext-n-But(B) ; Ext-Aqueux(C)) sur la bactérie Staphylococcus aureus	55
17	les resultats d'activites antibactérienne des extraits (Ext-Chloro(A) ; Ext-n-But(B) ; Ext-Aqueux(C)) sur la bactérie Escherichia coli	55
18	les resultats d'activites antibactérienne des extraits (Ext-Chloro(A) ; Ext-n-But(B) ; Ext-Aqueux(C) et Ext-AcEt(D)) sur le bactérie Pseudomonas aeruginosa	56

Liste des tableaux

Tableaux	Titre	Page
1	Principales ERO radicalaires et non-radicalaires	6
2	Rendement des extraits de <i>Pholiota carbonaria</i>	40
3	Résultats de screening chimique des extraits de champignon.	41
4	Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux des extraits de <i>Pholiota carbonaria</i>	44
5	Activité antioxydante des extraits de <i>Pholiota carbonaria</i> et l' α -Tocophérol.	47
6	.résultats : Variation du pourcentage d'inhibition de radical libre DPPH en fonction de l'augmentation de la concentration de chaque extrait.	49
7	Variation d'Absorbance (réduction du fer) en fonction de l'augmentation de la concentration de chaque extrait.	51
8	Effet antibactérien des extraits de <i>Pholiota carbonaria</i> sur divers isolats de bactéries.	54

Table des matières

Remerciements	i
Dédicaces	ii
Résumés	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux.....	
Introduction	1
chapitre 1: stress oxydatif.....	4
1. Stress oxydatif	4
2. Radicaux libres, espèces réactives de l'oxygène	4
2.1. Les radicaux libres biologiques	5
2.2. Production de radicaux libres	6
2.3. Sources endogènes.....	7
2.4. Sources exogènes.....	8
3. Cibles des espèces réactives de l'oxygène	8
4. Les défenses antioxydantes	9
4.1. Les antioxydants enzymatiques	9
4.2. Les Antioxydants non enzymatiques.....	11
5. Conséquences pathologiques du stress oxydatif.....	13
6. La relation entre les bactéries pathogènes et la production des radicaux libre	15
7. la relation entre les infections bactériennes et les radicaux libres	15
Chapitre 2: Champignon basidiomycète <i>Pholiota carbonaria</i> de la famille <i>Strophariaceae</i> , description et propriétés biologiques	16
1. Champignons basidiomycètes <i>Strophariacées</i> (<i>Strophariaceae</i>).....	16
1.1. Description morphologique	17
1.2. Mode de vie	18
2. Les intérêts biologiques des <i>Strophariacées</i>	18

2.1.	Intérêts écologiques et environnementaux	18
2.2.	Intérêts médicaux et pharmacologiques	19
2.3.	Intérêt agronomique et biotechnologique	19
2.4.	Intérêt alimentaire.....	19
3.	Molécules bioactives présentées chez les Strophariacées.....	19
4.	Champignon <i>Pholiota carbonaria</i> / <i>Pholiota highlandensis</i>	23
4.1.	Identification macro (morphologique) et microscopique de champignon <i>Pholiota carbonaria</i>	24
4.2.	Taxonomie et classification	25
4.3.	Mode de vie	26
4.4.	Répartition géographique et l'habitat	26
4.5.	Propriétés biologiques et biochimiques des <i>Pholiota carbonaria</i>	27
4.5.1.	Propriétés biologiques	27
4.5.2.	Propriétés biochimiques.....	27
	Matériel et méthodes.....	28
1.	Récolte et préparation de la matière fongique	28
2.	Extraction des molécules secondaires	28
2.1.	Extraction solide /liquide	29
2.2.	Extraction liquide /liquide.....	29
3.	Calcul du rendement	30
4.	Analyse qualitative des extraits par screening chimique	30
5.	Analyse quantitative des composés phénoliques et flavonoïdes.....	32
5.1.	Dosage des polyphénols totaux	32
5.2.	Dosage des flavonoïdes totaux (TF)	33
6.	Etude <i>in vitro</i> de l'Activité antioxydante	34
6.1.	Activité antiradicalaire au DPPH•	34
6.2.	Test du pouvoir réducteur (FRAP).....	36
7.	Evaluation de l'activité bactérienne	38
8.	Analyse statistique	38
	Résultats et Discussion.....	39
1.	Rendement d'extraction	39
2.	Analyse qualitative de différents métabolites secondaires (screening	

chimique de champignon).....	41
3. Analyse quantitative des substances bioactives (polyphénols et flavonoïdes .. totaux)	43
4. Evaluation d'activité antioxydante <i>in vitro</i>	46
4.1. Activité antiradicalaire Test de piégeage du DPPH•.....	48
4.2. Pouvoir réducteur de fer (FRAP).....	50
5. Activité antibactérienne	53
Conclusion	
Perspectives	
Bibliographie	
Résumé	

Introduction

Introduction

Notre corps requiert des nutriments (glucides, protéines et lipides) pour croître et conserver une bonne santé. L'oxydation de ces dernières génère l'énergie nécessaire pour la réalisation des diverses fonctions essentielles (**Hamma, 2021**).

Tous les organismes aérobies se basent uniquement sur l'oxydation phosphorylante mitochondriale pour produire de l'adénosine triphosphate (ATP) et préserver leur équilibre énergétique. L'oxygène est donc indispensable en raison de son puissant caractère oxydant, qui le rend aussi très dangereux pour toutes les molécules organiques (**Leverve, 2009**).

La réduction univalente de l'oxygène entraîne la création d'espèces oxygénées activées (EOA), comprenant des radicaux libres tels que l'anion superoxyde et le radical hydroxyle, ainsi que du peroxyde d'hydrogène et de l'oxygène singulet. Ces espèces peuvent être potentiellement nocives pour l'organisme, car elles sont capables d'inhiber des protéines, de provoquer des ruptures dans l'acide désoxyribonucléique (ADN), entraînant une déformation du message génétique, de détériorer les sucres, d'oxyder les lipoprotéines et de déclencher des mécanismes de peroxydation lipidique au sein de la membrane cellulaire en s'en prenant aux acides gras polyinsaturés. (**Pincemail et al., 1999**).

Les radicaux libres et les oxydants jouent un double rôle, à la fois toxiques et bénéfiques, car ils peuvent être nocifs ou bénéfiques pour l'organisme. Ils sont produits soit par le métabolisme cellulaire normal *in situ*, soit par des sources externes (pollution, fumée de cigarette, radiations, médicaments). Lorsqu'une surcharge de radicaux libres ne peut être progressivement éliminée, leur accumulation dans l'organisme génère un phénomène appelé stress oxydatif. Ce processus joue un rôle majeur dans le développement de maladies chroniques et dégénératives telles que le cancer, les maladies auto-immunes, le vieillissement, la cataracte, la polyarthrite rhumatoïde, les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives (**Pham-Huy et al., 2008**).

Introduction

Cependant, l'organisme garantit le maintien d'un niveau non cytotoxique d'ERO grâce à des systèmes appelés antioxydants. Ces systèmes incorporent des enzymes capables de catalyser la réduction des EROs (par exemple, la catalase, les dismutases de superoxyde ou les glutathion peroxydases), ainsi que des molécules non enzymatiques qui assurent leur neutralisation (par exemple, le glutathion réduit, l'acide ascorbique, la vitamine E et les polyphénols) (Louchtchak, 2011 ; Regoli *et Giuliani*, 2014). Un dysfonctionnement ou une carence de ces systèmes entraîne une aggravation des lésions tissulaires (Dröge, 2002).

Dans la culture asiatique, plusieurs champignons comestibles courants sont très prisés et présentent une activité antioxydante qui correspond étroitement à leur contenu total en phénoliques (Cheung *et al.*, 2003).

Appréciés depuis longtemps pour leur qualité culinaire et nutritionnelle, les champignons gagnent aujourd'hui une reconnaissance grâce à leurs innombrables vertus médicinales essentielles. Ils sont également valorisés comme aliments diététiques (aliments fonctionnels), compléments alimentaires, nutraceutiques et produits de monothérapie (Wasser, 2014 ; Elkhateeb, 2020).

Les champignons de la famille des Strophariacées, bien qu'ils ne soient pas aussi étudiés que d'autres genres tels que *Ganoderma* ou *Lentinula*, suscitent un intérêt grandissant en médecine traditionnelle grâce à leurs vertus curatives. On étudie aussi ces champignons pour leurs composés bioactifs, susceptibles de présenter des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et neuroprotectrices. Donc, même si les champignons de la famille des Strophariacées présentent un potentiel prometteur, des recherches additionnelles sont indispensables pour valider leur efficacité et leur sûreté dans une perspective médicale conventionnelle. (Wasser, 2011).

Introduction

Bien que *Pholiota carbonaria* présente un intérêt écologique, il n'est pas pour le moment reconnu pour ses usages dans le domaine médical. Actuellement, aucune recherche scientifique ou étude clinique ne confirme les propriétés thérapeutiques spécifiques de ce champignon. À l'inverse de certaines autres espèces apparentées, telles que *Pholiota nameko*, qui ont démontré des propriétés antioxydantes et ont fait l'objet de recherches pour leurs vertus médicinales.

Notre objectif est de procéder à une évaluation biologique du champignon sauvage « *Pholiota carbonaria* » d'Algérie, son action antioxydante et ses vertus thérapeutiques. Les objectifs spécifiques sont : Réaliser une étude qualitative des composés chimiques, déceler les éléments bioactifs comme les polyphénols et les flavonoïdes. Évaluation du potentiel thérapeutique in vitro par l'analyse de l'activité antioxydante et antibactérienne.

Ce travail se compose de deux sections, une revue de littérature et une partie expérimentale. L'élément bibliographique comprend deux sections ; la première fournit des détails sur le stress oxydatif, tandis que la seconde décrit les caractéristiques biologiques de l'espèce en question, « *Pholiota carbonaria* », y compris ses propriétés antioxydantes et antibactériennes, tout en mettant en lumière les recherches scientifiques menées à l'échelle mondiale.

La section expérimentale décrit la méthode d'extraction employée, les tests qualitatifs par le screening chimique, la mesure des composés bioactifs (polyphénols et flavonoïdes) provenant de divers extraits, ainsi que l'évaluation des actions biologiques in vitro (capacité antioxydante et action antibactérienne). Les sections qui traitent des résultats et leurs discussions constituent la contribution majeure de la mémoire. Il est structuré en sections, chacune détaillant les actions biologiques effectuées. Une conclusion générale présente finalement un récapitulatif des apports du travail et décrit les perspectives envisagées.

chapitre 1: stress oxydatif

1.Stress oxydatif

Le stress oxydatif est défini par le déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO, ou les pro-oxydants) et les capacités antioxydantes des cellules. Les ERO ont été perçues pendant une longue période comme des résidus toxiques découlant du métabolisme standard de l'oxygène et étaient liées à diverses maladies (**Migdal et Serres, 2011**).

Ce qui manifeste par des détériorations oxydatives qui affectent tous les composants cellulaires : les lipides avec la dégradation des membranes cellulaires, les protéines avec la modification des récepteurs et des enzymes, ainsi que les acides nucléiques qui présentent un danger de mutation et de cancérisation.

2.Radicaux libres, espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène incluent les radicaux libres d'oxygène et leurs précurseurs, constituent un ensemble de composés chimiques généralement très réactifs. Cette réactivité est exploitée par les organismes vivants dans des processus de défense ou de communication au sein ou entre les cellules (**Favier, 2003**).

L'idée de « radicaux libres », de « stress oxydant » ou « antioxydants » est de plus en plus fréquemment citée pour justifier diverses affections pathologiques et leurs traitements. Effectivement, ces divers termes se réfèrent à un univers chimique ayant d'importantes conséquences métaboliques réelles : l'état d'oxydoréduction, sur lequel repose la création de « radicaux libres ». En raison de son rôle central dans l'homéostasie énergétique, ainsi que dans la structuration des systèmes de défense et de communication cellulaire (**Leverve, 2009**).

Les radicaux libres sont des entités chimiques (atomes ou molécules) qui ont un électron non-apparié (isolé) sur leur couche orbitale extérieure, et ont une très faible stabilité et une durée de vie très courte (approximativement 10^{-4} secondes). Ils peuvent être issus de l'oxygène (espèces réactives de l'oxygène, ERO) ou d'autres éléments tels que l'azote (espèces réactives d'azote, ERA). (Boulif, 2013). Néanmoins, des concentrations excessives de ces espèces d'O₂ partiellement réduites peuvent provoquer des dysfonctionnements et des altérations morphologiques dans les cellules.

2.1. Les radicaux libres biologiques

Il est important de faire la distinction entre les différentes espèces radicalaires qui peuvent se former dans les cellules (Tableau 1), notamment : (Favier, 2003)

- ❖ Des radicaux primaires : ils dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron, comme le superoxyde O₂•⁻ et le radical hydroxyle OH• ; ou de l'azote, comme le monoxyde d'azote NO•.
- ❖ Des radicaux secondaires : ils se créent par l'interaction de ces radicaux primaires avec les composés biochimiques présents dans la cellule.
- ❖ D'autres formes d'oxygène dérivées : ce qu'on appelle les espèces réactives de l'oxygène, telles que l'oxygène singulet ¹O₂, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) ou le nitroperoxyde (ONOOH), bien qu'elles ne soient pas des radicaux libres, sont aussi réactives et peuvent donner naissance à des radicaux.

Tableau 1 : Principales ERO radicalaires et non-radicalaires (Lahmar, *et al.*, 2022).

Espèces réactives de l'oxygène (ERO)	
Radicalaire	Non radicalaire
Radical superoxyde : $O_2^{\bullet-}$	Peroxyde d'hydrogène : H_2O_2
Radical hydroxyle OH^{\bullet}	Ion hypochlorite : ClO^-
Peroxyde : RO_2^{\bullet}	Ozone O_3
Alkoxyde : RO^{\bullet}	Oxygène singulet : 1O_2
Hydroperoxyde : HO_2^{\bullet}	Peroxynitrite : $ONOO^-$

2.2. Production de radicaux libres

La génération de ces espèces oxydantes découle inéluctablement du métabolisme aérobie. Effectivement, pour générer de l'énergie lors des réactions appelées respirations oxydatives, l'organisme a besoin d'oxygène. (Fontaine, 2008).

Toutefois, une petite portion de l'oxygène ne subit pas de réduction en eau au niveau de la mitochondrie. Elle peut donc être responsable de la génération de radicaux libres oxygénés (Bichi et Mosbah, 2015)

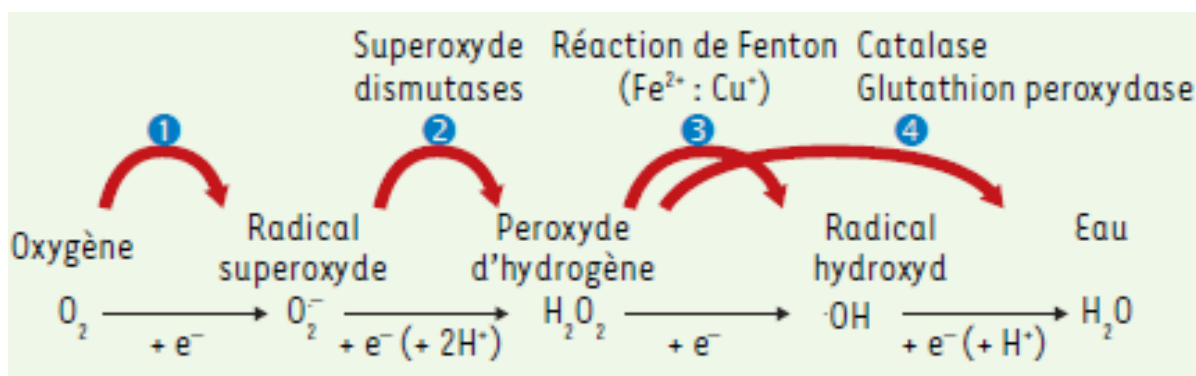


Figure 1 : Les quatre étapes de la réduction de l'oxygène et la formation des Intermédiaire partiellement réduits (Migdal *et Serres*, 2011).

2.3.Sources endogènes

Les différentes formes de ROS sont générées de manière interne lors du métabolisme mitochondrial, dans le peroxysome ainsi que par divers systèmes d'enzymes cytosoliques. De plus, divers agents externes peuvent provoquer la production de ROS (Taibur, *et al.*, 2012).

On estime que près de 90 % des ROS cellulaires proviennent des mitochondries. La production de ROS mitochondriales découle de la phosphorylation oxydative, une procédure qui exploite l'oxydation maîtrisée du NADH ou du FADH afin de créer une énergie potentielle pour les protons via la membrane interne mitochondriale (Balaban, *et al.*, 2005 ; Bull, *et al.*, 2006).

L'inflammation est par ailleurs une source importante de radicaux oxygénés produits directement par les cellules phagocytaires activées, qui sont le siège d'un phénomène appelé explosion oxydative, consistant en l'activation du complexe de la NADPH oxydase, enzyme capable d'utiliser l'oxygène moléculaire pour produire de grandes quantités d'anions superoxydes au niveau de la membrane cellulaire. Ce mécanisme, lorsqu'il est contrôlé, est capital dans la lutte anti-infectieuse, car il permet la phagocytose des bactéries et des corps étrangers (Favier, 2003).

Les cellules endothéliales et inflammatoires génèrent aussi des ROS, à cause de la respiration cellulaire dans des circonstances physiologiques et pathologiques (Nobari, *et al.*, 2021).

Une variété d'enzymes, y compris les oxydases NADPH (NOX), la xanthine oxydase, la synthèse de l'oxyde nitrique et les composants peroxysomiaux, sont responsables de la production des ROS (Andres, *et al.*, 2021).

Les réactions non enzymatiques englobent l'interaction de l'oxygène avec les substances organiques, générant par conséquent des radicaux libres. Les radicaux libres peuvent être produits de manière endogène ou exogène. L'activation des cellules immunitaires, l'inflammation, l'ischémie, l'infection, le cancer, une activité physique excessive, du stress mental et le processus de vieillissement peuvent déclencher la voie endogène (Nobari, et al., 2021).

2.4. Sources exogènes

Le cadre de notre existence ainsi que nos habitudes de vie provoquent une production accrue de ROS dans notre corps, ce qui engendre un stress oxydant. On peut mentionner (William, 2013) :

- ✓ L'exposition aux rayons ultraviolets, aux ultrasons, aux micro-ondes et à des champs magnétiques.
- ✓ L'exposition aux métaux lourds et substances cancérigènes.
- ✓ La consommation de tabac et d'alcool, les infections microbiennes.
- ✓ L'administration de médicaments et l'utilisation de contraceptifs oraux.
- ✓ Une pratique excessive ou inappropriée d'un sport.
- ✓ Le stress mental ou émotionnel.

3. Cibles des espèces réactives de l'oxygène

Les produits de la réduction partielle de l'O₂ comme le radical superoxyde (O₂^{•-}), le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), le radical hydroxyle (OH[•]) et même l'O₂ sont nocifs et altèrent les macromolécules à l'échelle cellulaire.

Habituellement, les effets délétères des ROS au sein de la cellule englobent des lésions sur l'ADN ou l'ARN ; la peroxydation lipidique des acides gras polyinsaturés (comme les

phospholipides de membrane). Polyinsaturés (comme les phospholipides membranaires) et l'oxydation des protéines. Ils provoquent des atteintes irréversibles à l'ADN, aux lipides et aux enzymes contenus dans le cytosol cellulaire, car ils oxydent et altèrent les éléments cellulaires, entravant leur capacité à accomplir leurs rôles initiaux (Lakhal, 2011).

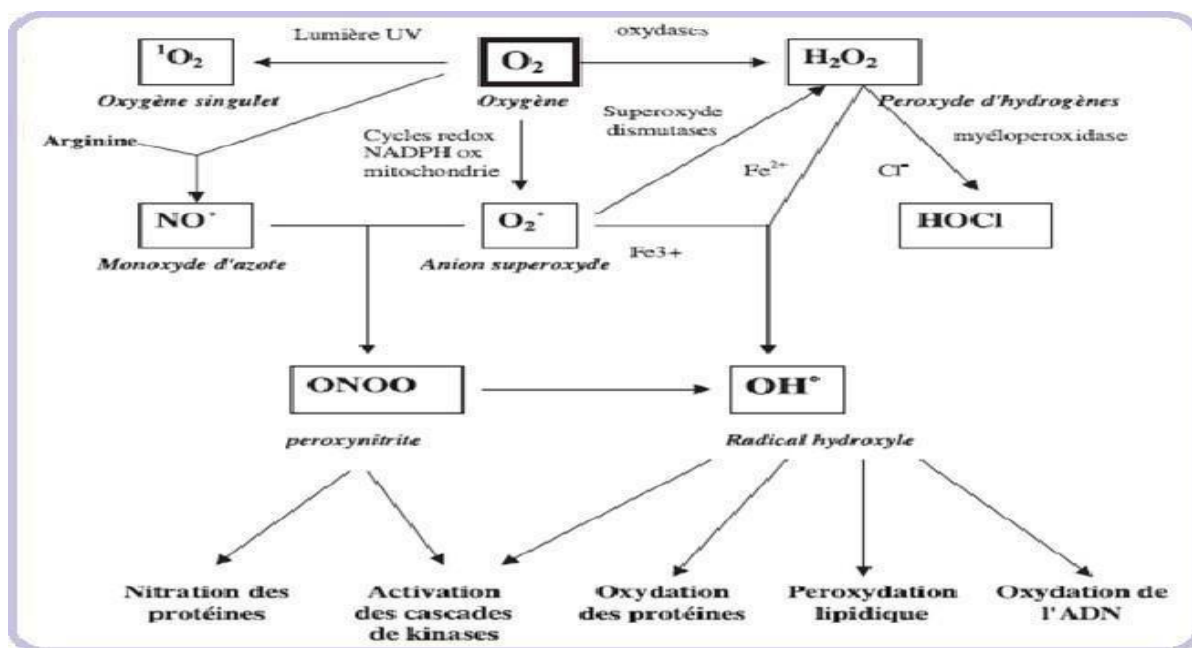


Figure 2 Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliquée en biologie (Djouadi, 2012)

4. Les défenses antioxydantes

Notre organisme dispose d'un système de défenses qui englobe les antioxydants enzymatiques et non-enzymatiques, localisées dans les espaces intra- et extracellulaires.

Un antioxydant est une matière qui inhibe ou retarde de façon significative l'oxydation d'un substrat, même si sa concentration dans le milieu où elle agit est très faible (Birouk, et al., 2012)

4.1. Les antioxydants enzymatiques

Les enzymes, présentes de façon endogène, ont la capacité de défendre les cellules contre les radicaux libres générés physiologiquement lors du métabolisme cellulaire normal.

Chapitre 1: Stress oxydatif

Les systèmes enzymatiques majeurs comprennent les dismutases de superoxyde (SOD), la catalase (CAT) et diverses versions de la glutathion peroxydase (GSH-PX). Ces enzymes agissent en complément l'une de l'autre dans la chaîne de réactions radicalaires impliquant l'O^{•-} et le H₂O₂, aboutissant finalement à la création d'eau et d'oxygène moléculaire (**Bouchair , et al., 2022**)

La Superoxyde dismutase

Chez les eucaryotes, les SOD sont des métalloprotéines, spécifique pour l'éradication de l'anion superoxyde, première espèce toxique issue de l'oxygène (**Boughellout et Amara, 2015**).

Les dismutases de superoxyde ont la faculté de supprimer l'anion superoxyde via une réaction de dismutation, qui produit deux molécules de superoxyde, générant une molécule d'oxygène et une molécule de peroxyde d'hydrogène (**Favier, 2003**). On distingue trois formes de SOD chez l'être humain, à savoir : la SOD à cuivre-zinc, localisée dans le cytoplasme, la SOD à manganèse, qui se trouve dans les mitochondries, et une SOD extracellulaire, qui est également une SOD à cuivre-zinc (**Kehili, 2018**).

La Catalase

La catalase est une enzyme à base d'hème, qui convertit le peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène moléculaire, localisée principalement dans les peroxysomes et les hématies. La position de la catalase dans les peroxysomes, qui sont aussi le site de production d'H₂O₂, substrat de l'enzyme, garantit que la détoxification du peroxyde d'hydrogène se fait sur place (**Chenichene , et al., 2014**)

La glutathion peroxydase

Les enzymes appartenant à cette catégorie dépendent du Sélénium (Se). La glutathion peroxydase (GPX) se situe dans le cytoplasme et a un rôle essentiel dans la régulation de l'état redox physiologique à l'intérieur des cellules vasculaires. Elle facilite la transformation des hydro peroxydes (H₂O₂) et des peroxydes lipidiques en se servant du glutathion réduit (GSH)

comme fournisseur d'hydrogène (**Zerargui, 2015**). Elle a considéré comme un défenseur de l'hémoglobine. Elle favorise également la suppression des radicaux lipidiques par le glutathion réduit.

La glutathion réductase (GR)

La glutathion réductase (GR) convertit le glutathion oxydé en glutathion réduit grâce à l'utilisation du NADPH nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (**figure 3**). C'est une enzyme essentielle pour conserver l'activité de GPX.

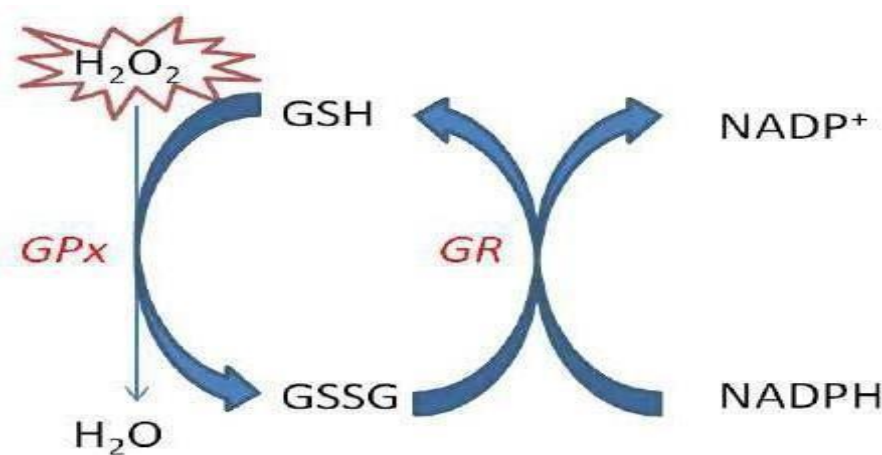


Figure 3. Cycle d'élimination de H_2O_2 par le GSH (**William, 2013**).

4.2. Les Antioxydants non enzymatiques

Des substances spécifiques ont la capacité de capturer et d'éliminer les espèces réactives de l'oxygène. On retrouve ces composés facilement oxydables dans le cytoplasme (glutathion, acide ascorbique) ou au sein des membranes cellulaires (alpha-tocophérol, caroténoïdes) (**Hamadi, 2010**).

- Le glutathion

Le glutathion, également connu sous le nom de gamma-glutamyl-cystéinyl-glycine ou GSH, est un tripeptide riche en cystéine qui possède des caractéristiques réductrices et nucléophiles. Il joue un rôle crucial dans la défense cellulaire contre les agressions oxydatives

Chapitre 1: Stress oxydatif

touchant les lipides, les protéines et les acides nucléiques. Le GSH contrôle le métabolisme des protéines et leurs fonctions par le biais de l'échange thiol-disulfure. Lors d'un stress oxydatif, le GSH assume un rôle crucial de protection et de détoxification en tant que cofacteur des glutathion peroxydases et des glutathion-S-transférases. Il y a des interactions synergiques entre le GSH et divers éléments du système de défense antioxydant, comme la vitamine C, la vitamine E et les superoxydes dismutases (**Gerad et Chaudiere, 1996**)

- La Vitamine C (acide ascorbique)

C'est l'un des antioxydants hydrosolubles majeurs que l'on retrouve dans les fluides intra- et extracellulaires. La vitamine C peut interagir directement avec des espèces réactives de l'oxygène telles que HO° ou O_2° . Elle a la capacité de régénérer l' α -tocophérol, contribuant ainsi à empêcher l'oxydation des lipides (**Chenichene, et al., 2014**)

La vitamine C est cruciale pour le cerveau, notamment en tant que cofacteur de la dopamine bêta-hydroxylase, et contribue donc à la biosynthèse des catécholamines. Elle défend aussi les phospholipides de la membrane contre les dommages liés au peroxyde et a prouvé son efficacité en tant que capteur de radicaux libres dans le cerveau (**Boutine et Boukedjane, 2021**)

- La Vitamine E (α -tocophérol)

La vitamine E joue un rôle crucial dans l'activité antioxydante. Elle capture les radicaux libres issus de l'oxygénation cellulaire, fréquemment les acides gras polyinsaturés lorsqu'ils sont exposés à l'oxygène. La vitamine E se charge de protéger les acides gras polyinsaturés présents dans les aliments. Dans le corps, cette défense agit sur les membranes cellulaires et les lipoprotéines (**Neyrat, 2001**).

- La Vitamine A

Il existe une grande variété de caroténoïdes qui constituent la source alimentaire principale du rétinol. Outre leur rôle en tant que provitamine A, les caroténoïdes ont la capacité d'inactiver l'oxygène singulet et les radicaux libres en neutralisant l'électron non apparié, ce qui

Chapitre 1: Stress oxydatif

les transforme en molécules ou ions stables (**Chenichene et al., 2014**)

- Les Polyphénols

Les polyphénols sont des composés présents dans les végétaux, réputés pour leurs fortes capacités anti-inflammatoires et antioxydantes, dépendent de leurs structures chimiques spécifiques. (**Caris, 2024**) Ces composés possèdent des propriétés aromatiques distinctes et un système fortement conjugué enrichi de plusieurs groupes hydroxyles, ce qui leur permet d'agir comme de puissants donneurs d'électrons ou d'hydrogène. Ils neutralisent efficacement les radicaux libres et les autres espèces réactives oxygénées (ERO) (**Zhang et Tsao, 2016**).

- Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent une catégorie de polyphénols, tout comme les lignines et les tanins. Ces molécules des antioxydantes, ont la capacité de contrer les radicaux libres et donc de protéger les cellules contre les dommages induits par le stress oxydatif. (**Zone, 2025**).

Les champignons amassent divers métabolites secondaires, y compris des composés phénoliques, des polycétides, des terpènes et des stéroïdes. Il a été prouvé que les composés phénoliques possèdent une activité antioxydante (**Asatiani, et al., 2011**).

5.Conséquences pathologiques du stress oxydatif

Le stress oxydatif est une forme d'agression cellulaire causée principalement par les radicaux libres, neutralisables par les antioxydants. Ce phénomène s'accéléralant avec l'âge, il est essentiel de maintenir une alimentation équilibrée et un mode de vie sain. Une supplémentation en antioxydants est parfois recommandée, notamment en cas de carence ou d'activité sportive intense (**Sebbar , et al., 2023**).

Il induit de multiples autres anomalies biologiques : mutation, carcinogenèse, malformations fœtales, accumulation de protéines anormales, fibrose, production d'auto-anticorps, accumulation de lipides oxydés et immunosuppression. (**Favier, 2003**). Ces dernières représentent les causes de diverses maladies (**Figure 4**).

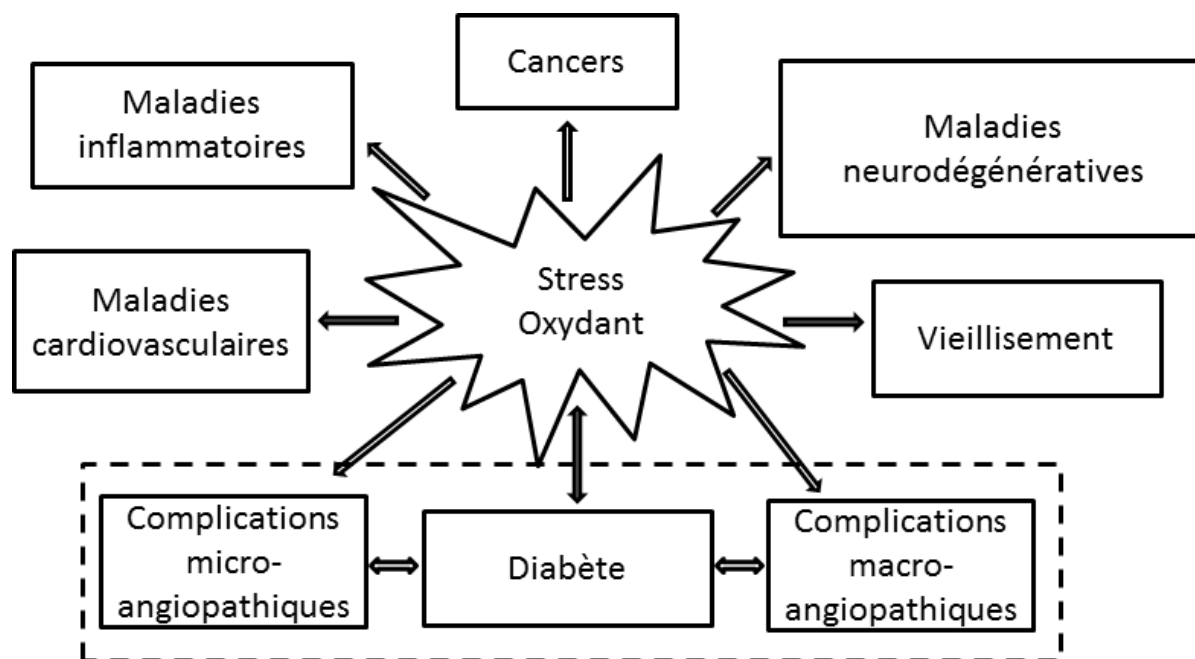


Figure 4 : La place centrale du stress oxydant au sein des pathologies (Maiche *et* Benoudina, 2020)

6. La relation entre les bactéries pathogènes et la production des radicaux libre

L'élaboration de thérapies axées sur l'induction de stress oxydatif dans le but de compromettre les mécanismes redox des bactéries pathogènes est une tactique significative qui a généré un intérêt grandissant au fil des années (Mourenza, *et al.*, 2020).

7. la relation entre les infections bactériennes et les radicaux libres

Les environnements riches en oxygène présentent des dangers dans un environnement riche en anoxique. Le superoxyde et le peroxyde d'hydrogène sont tous deux produits dans les cellules, dépouillant les électrons de nombreuses enzymes redox. Ces entreprises ont la capacité de changer la fonction des métalloenzymes et la stabilité des ADN, ce qui signifie que les organismes peuvent être protégés de l'utilisation d'enzymes de capture et de mécanismes de réparation. Cependant, de grandes quantités d'oxydants détruisent rapidement les bactéries et des concurrents microbiens, tels que ceux qui attaquent les hôtes eucaryotes, exploitent cette vulnérabilité en attaquant ces bactéries avec du peroxyde ou des antibiotiques qui produisent des superoxydes. Les bactéries utilisent des

Chapitre 1: Stress oxydatif

stratégies adaptatives sophistiquées en réaction. *Escherichia coli*, un modèle de bactéries, est le corps le mieux compris en termes de sécurité et de réponse au stress oxydatif (**Imlay, 2013**).

Chapitre 2:
Champignon
basidiomycète *Pholiota*
carbonari
a de la famille
Strophariaceae,
description et propriétés
biologiques

Chapitre 2 : Champignon basidiomycète *Pholiota carbonaria* de la famille Strophariaceae, description et propriétés biologiques

1. Champignons basidiomycètes Strophariacées (Strophariaceae)

Dans le langage courant, on désigne souvent les basidiomycètes sous le nom de champignons à chapeau. Ce groupe comprend les agaricales ou champignons à lamelles, dont la majorité des espèces sont comestibles et toxiques. Il englobe aussi des organismes microscopiques tels que les levures, ainsi que des parasites végétaux comme les rouilles ou les charbons. (TaxeRef, 2025)

Les basidiomycètes, qui appartiennent au phylum Basidiomycota, constituent une catégorie importante de champignons définis par leur capacité à produire des spores sexuées nommées basidiospores, généralement disposées sur une structure spécifique appelée baside (Alexopoulos, *et al.*, 1996).

La famille des Strophariacées, qui fait partie de l'ordre des Agaricales et de la classe des Agaricomycetes, elle-même classée dans le phylum Basidiomycota, regroupe des champignons à lames. Cela indique qu'elles constituent un sous-groupe au sein des Basidiomycètes. (Courtecuisse et Duhem, 2011). Quelques exemples des champignons appartenant à cette famille: *Pholiota squarrosa* (Kibby, 2017) ; *Psilocybe cubensis* (Guzmán, 2005) ; *Hypholoma fasciculare* (Courtecuisse et Duhem, 2011).

L'importance de ces champignons est centrée sur plusieurs domaines, notamment: contribuent à la décomposition des matériaux végétaux (bois, feuilles, etc.), participent au processus de réutilisation des nutriments (azote, phosphore, carbone) dans le sol. Aussi des genres tels que *Psilocybe* renferment des composés psychotropes (psilocybine et psilocine) actuellement examinés pour leur potentiel de traitement dans : la prise en charge de la dépression résistante et l'inquiétude associée aux maladies graves et l'addiction (tabagisme, alcoolisme) (Kirk, *et al.*, 2008).

Chapitre 2 : Champignon basidiomycète *Pholiota carbonaria* de la famille Strophariaceae, description et propriétés biologiques

Certaines espèces, telles que *Hypholoma capnoides*, sont comestibles, cependant la famille regroupe également des espèces toxiques ou douteuses, d'où la nécessité de faire preuve de prudence (Kirk, *et al.*, 2008).

1.1. Description morphologique

Elle se distingue essentiellement par ses sporophores à lames, souvent charnus, dotés d'un chapeau hémisphérique à convexe et d'un pied central souvent orné d'un anneau ou d'une bande annulaire (**Figure 5**). Les spores, qui présentent une teinte allant du brun violacé au brun sombre, sont lisses et fréquemment décorées d'un germe à leur sommet. Cette famille regroupe des espèces saprophytes, qui sont majoritairement lignicoles ou terricoles. Ils occupent divers types d'habitats, notamment des forêts, des prairies et des environnements rudéraux. L'observation microscopique de leurs structures, telles que les cystides ou les basides, est indispensable pour les identifier (Courtecuisse et Duhem., 2000).



Figure 5: Représente deux espèces de la famille *Strophariaceae*, à gauche l'espèce *Gymnopilus spectabilis* ; à droite, l'espèce *Pholiota limonella*. Source base de données mycologiques : <https://www.mycodb.fr/quicksearch.php>.

Chapitre 2 : Champignon basidiomycète *Pholiota carbonaria* de la famille Strophariaceae, description et propriétés biologiques

1.2. Mode de vie

Les champignons jouent un rôle crucial dans la décomposition de la matière organique et représentent une composante essentielle des organismes décomposeurs sur notre planète. (Lutzoni , *et al.*, 2002) . En outre, quelques champignons peuvent être phytopathogènes ou induire des mycoses chez les animaux. Un troisième mode de vie, symbiotique, est aussi très courant (Messaoudi *et Nasri* , 2021).

Les champignons appartenant à la famille des *Strophariaceae* ont un mode de vie principalement saprotrophe, ce qui signifie qu'ils se nourrissent de matière organique morte, telle que le bois en décomposition, les feuilles ou les excréments. Cette fonction de décomposeurs leur confère un rôle actif dans le cycle des nutriments au sein des écosystèmes terrestres, spécifiquement dans les forêts et les prairies. Il est courant d'observer des genres tels que *Hypholoma*, *Stropharia* ou *Psilocybe* sur des substrats qui sont riches en cellulose ou en lignine. Par ailleurs, certaines espèces présentent des traits coprophiles, alors que d'autres, bien qu'occasionnellement, pourraient établir des liens symbiotiques ou parasitaires (Laessoe *et Petersen*, 2019).

2. Les intérêts biologiques des *Strophariacées*

2.1.Intérêts écologiques et environnementaux

Elles ont une importance cruciale dans les cycles biogéochimiques, en particulier le cycle du carbone, car elles décomposent la matière organique complexe (cellulose, lignine) du bois et produisent de l'humus (Rayner *et Boddy*, 1988). Des organismes tels que *Hypholoma fasciculare* agissent comme des décomposeurs du bois efficaces, facilitant la libération de nutriments au sein de l'écosystème forestier (Moore, *et al.*, 2011).

Chapitre 2 : Champignon basidiomycète *Pholiota carbonaria* de la famille Strophariaceae, description et propriétés biologiques

2.2.Intérêts médicaux et pharmacologiques

Quelques membres du genre *Psilocybe* renferment de la psilocybine, un alcaloïde psychotrope dont les effets neurologiques sont explorés pour soigner des affections telles que la dépression, l'anxiété et le stress post-traumatique (Carhart-Harris et Goodwin, 2017). Certaines espèces de *Strophariacées* génèrent des métabolites secondaires qui pourraient avoir des propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et anticancéreuses. Tels que les composés phénoliques, les flavonoïdes et des stérols caractérisés dans le champignon *Stropharia rugosoannulata*, qui ont la capacité de neutraliser les radicaux libres et certaines souches bactériennes pathogènes. Ces caractéristiques les rendent attrayants pour la recherche dans le secteur pharmaceutique. (Dulta, et al., 2023).

2.3.Intérêt agronomique et biotechnologique

Les *Strophariaceae*, en particulier *S. rugosoannulata*, sont mises en œuvre dans des initiatives de bioremédiation grâce à leur aptitude à décomposer des polluants organiques comme les hydrocarbures, les pesticides et d'autres contaminants présents dans le sol. Ces champignons, grâce à leurs enzymes extracellulaires telles que les laccases et les peroxydases, ont la capacité de décomposer des substances complexes et d'améliorer ainsi la qualité du sol. Ces caractéristiques font d'eux des alliés précieux pour l'agriculture durable et la restauration écologique (Pozdnyakova, et al., 2018).

2.4.Intérêt alimentaire

Stropharia rugosoannulata, également connu sous le nom de champignon vin rouge, est un champignon comestible prisé pour sa consistance charnue et ses qualités nutritives. Il renferme un apport considérable en protéines, en fibres alimentaires, en acides aminés indispensables, ainsi qu'en vitamines (B1, B2, B12) et en minéraux (Fe, Zn, K). Il contient aussi peu de lipides, ce qui le rend attrayant d'un point de vue diététique, surtout pour les régimes végétariens ou à faible teneur en graisses (Hu, et al., 2021).

Chapitre 2 : Champignon basidiomycète *Pholiota carbonaria* de la famille Strophariaceae, description et propriétés biologiques

3. Molécules bioactives présentées chez les Strophariacées

Elles sont généralement une source riche en composés bioactifs ayant des propriétés variées tant pharmacologiques que nutritionnelles.

❖ **Glucides** : les champignons appartenant à la famille des *Strophariaceae* renferment des glucides, principalement sous forme de polysaccharides (tels que les β -glucanes) et de sucres simples (comme le glucose, le galactose, le mannose, etc). Ces glucides sont essentiels en raison de leurs caractéristiques bioactives telles que les propriétés antioxydantes, immunomodulatrices, entre autres (He, *et al.*, 2012).

❖ **Acides gras** : Les champignons appartenant à la famille des *Strophariaceae*, comme *Stropharia rugosoannulata*, renferment des lipides, principalement sous la forme d'acides gras essentiels. Une recherche a recensé 15 variétés d'acides gras dans ce champignon, y compris l'acide oléique (C18 :1), l'acide linoléique (C18 :2) et l'acide éicosadiénoïque (C20 :2), qui cumulativement composent entre 73,66 % et 85,49 % du profil lipidique, en fonction de la méthode de séchage employée.

Dans cette collection d'acides gras, l'acide oléique est le plus prévalent, avec des taux qui fluctuent entre 47,46 % et 63,12 %, en fonction de la méthode de séchage employée. L'acide linoléique, qui est un acide gras polyinsaturé essentiel, est aussi présent en proportions notables (Yu, *et al.*, 2023).

❖ **Oligo-éléments** : Ils peuvent contenir des oligo-éléments, bien que les données spécifiques à cette famille soient limitées. Une étude a examiné la composition minérale de champignons sauvages et a révélé que certaines espèces accumulent des éléments traces essentiels tels que le cuivre (Cu), le manganèse (Mn), le sélénium (Se) et le zinc (Zn) (Mirończuk-Chodakowska, *et al.*, 2019).

Chapitre 2 : Champignon basidiomycète *Pholiota carbonaria* de la famille Strophariaceae, description et propriétés biologiques

❖ **Lectines** : sont des protéines appelées agglutinines, ont des intérêts biologiques importantes et applications médicales intéressantes, La lectine SRL est une protéine de 38 k Da présente dans *S. rugosoannulata* (**Figure 6**). Elle a démontré une action inhibitrice sur la multiplication des cellules hépatiques cancéreuses (Hep G2), des cellules leucémiques L1210 et de la transcriptase inverse du VIH-1 (Lei, *et al.*, 2023).

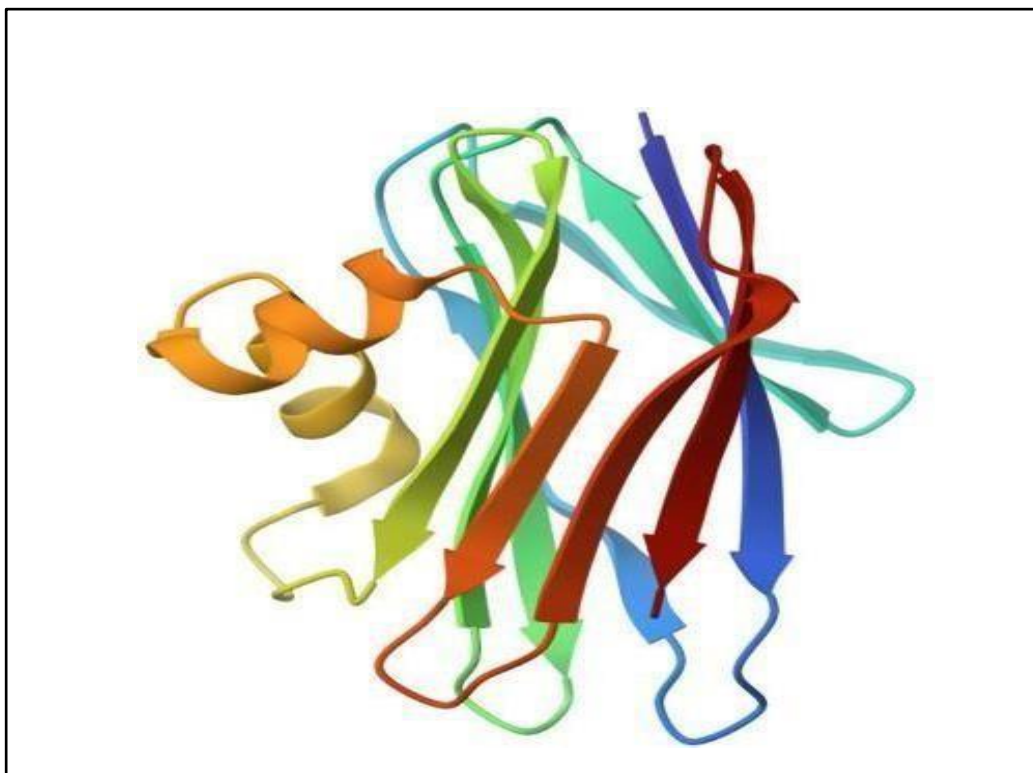


Figure 6 : Représente la structure 3D de lectine SRL de *S. rugosoannulata*. (Source web : Le base des données PDB consulté le 17 /04/2025 sur: [RCSB PDB - 2OFD: The Crystal Structure of Sclerotium rolfsii lectin in complex with N-acetyl-D-galactosamine](#))

❖ **Stérols** : Ces champignons renferment divers stérols, y compris l'ergostérol qui est le précurseur de la vitamine D2, ainsi que des stérols distinctifs tels que les strophastérols A, B, C et D. Ces substances possèdent diverses activités biologiques, dont l'inhibition de la formation d'ostéoclastes, l'expansion fongique, le stress du réticulum endoplasmique et la sauvegarde des cellules neuronales (Lei, *et al.*, 2023).

**Chapitre 2 : Champignon basidiomycète *Pholiota carbonaria* de la famille
Strophariaceae, description et propriétés biologiques**

Chapitre 2 : Champignon basidiomycète *Pholiota carbonaria* de la famille Strophariaceae, description et propriétés biologiques

❖ **Oligopeptides** : Les octapeptides, nonapeptides et décapeptides exercent une inhibition sur l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE), ce qui pourrait influencer la régulation de la tension artérielle (Lei , et al.,2023)

❖ **Triterpènes** : démontrent des propriétés antitumorales (Lei , et al., 2023).

❖ **Composés phénoliques** : Ils se trouvent dans certaines espèces de la famille des Strophariaceae, comme le *Fuscoporia torulosa*. Plusieurs composés phénoliques, y compris l'inoscavine A et son isomère Z, ainsi que le 3,4-dihydroxy-benzaldéhyde, ont été isolés à partir de l'extrait méthanolique de ce champignon lors d'une recherche. Ces composés ont démontré des propriétés **antibactériennes** et **antioxydantes** notables. (Zoltán , et al., 2021)

❖ **Les flavonoïdes** : elles sont présentées dans ces champignons. Une analyse combinée de transcriptome et de métabolome a révélé la présence de divers flavonoïdes dans le corps fructifère de l'espèce *S. rugosoannulata*, notamment l'acacétine-7-O-glucoside, la quercétine-3-xylosyl-(1→6) -glucoside, la kaempférol-3-O-(4''-O-acétyl) rhamnoside et la robinetine. Ces composés ont démontré des fluctuations notables de leur concentration durant le développement du champignon, indiquant une biosynthèse dynamique des flavonoïdes dans cette espèce. (Xian, et al., 2024).

Chapitre 2 : Champignon basidiomycète *Pholiota carbonaria* de la famille Strophariaceae, description et propriétés biologiques

4. Champignon *Pholiota carbonaria* / *Pholiota highlandensis*

Le champignon *Pholiota carbonaria*, également connu sous le nom de *Pholiota highlandensis*, est une espèce de champignon basidiomycète de la famille des Strophariaceae (**Figure 7**).

On le considère généralement comme un champignon non comestible, du fait de sa rareté et de son absence d'intérêt gastronomique. (Source site web: <https://ultimate-mushroom.com/fr/edible/1047-pholiota-highlandensis.html>, consulté le 18/05/2025)

Le champignon *Pholiota carbonaria* a une importance écologique majeure dans les écosystèmes forestiers après un incendie. En se comportant comme un saprotrophe, il décompose la matière organique carbonisée, participant de ce fait à la revitalisation du sol en libérant des nutriments indispensables aux végétaux. En outre, il s'associe de manière endophyte avec des mousses, comme *Polytrichum commune*, en créant des liens symbiotiques qui facilitent l'établissement de ces plantes dans le sol et renforcent la stabilité du sol (Raudabaugh, et al., 2021).



Figure 7 : Représente le champignon *Pholiota carbonaria*. Le base des données MycoDB consulte sur le site web :

<https://www.mycodb.fr/fiche.php?espece=highlandensis&genre=Pholiota&utm>

Chapitre 2 : Champignon basidiomycète *Pholiota carbonaria* de la famille Strophariaceae, description et propriétés biologiques

4.1. Identification macro (morphologique) et microscopique de champignon *Pholiota carbonaria*

Dans le domaine de la mycologie, plusieurs paramètres sont essentiels pour identifier ou déterminer l'espèce. La distinction entre les champignons toxiques et les autres comestibles s'appuie sur l'analyse des traits morphologiques et microscopiques, un facteur crucial.

Parmi les caractéristiques distinctives qui distinguent le *Pholiota carbonaria* des autres champignons (Quadraccia et Lunghini, 1990), on trouve :

❖ **Chapeau** : est de couleur brune, jaune, orange avec un diamètre de 3-5 cm, initialement convexe puis aplani, plutôt flexible, légèrement creux au centre, d'une teinte fauve rousse avec des bords plus jaunâtres. Une surface lisse et brillante, glissante en milieu humide, soyeuse lorsqu'elle est sèche. Cuticule qui est à la fois élastique et détachable.

❖ **Lames** : Crème, Gris, Jaune de teinte jaunâtre puis gris cendré, avec des marges et des nervures bien marquées. Bord délicatement crénelé.

❖ **Stipe** : Brun, Crème, Jaune Rugosités avec diamètre de 5 à 7 x 0,8 cm, légèrement inférieur ou réduit sous les lames, de couleur blanchâtre au sommet et citrin fauve à la base, parsemé de points brun roux jusqu'à une zone annulaire avec cortine.

❖ **Chair** : Blanche, élancée, avec un subtil parfum de champignon et un goût doux, légèrement astringent.

❖ **Odeur et goût** : L'odeur ne se distingue pas ; le goût est soit doux, soit désagréable (similaire à celui d'un radis dans mes collections).

❖ **Spores** : Elliptiques, mesurant entre 7 et 9 x 4,5-5 µm, lisses et de couleur gris jaunâtre pâle, elles possèdent une paroi épaisse avec un pore germinatif distinct. Cheilocystides et pleurocystides en forme de fuseau à paroi basale épaissie.

Chapitre 2 : Champignon basidiomycète *Pholiota carbonaria* de la famille Strophariaceae, description et propriétés biologiques

4.2. Taxonomie et classification

Traditionnellement, l'identification du genre *Pholiota* a été largement basée sur des caractéristiques morphologiques visibles à l'œil nu et microscopiques, comme la teinte des spores, la consistance du chapeau et la présence d'un anneau. Ces critères ont fréquemment généré des confusions avec des genres similaires tels que *Hypholoma* ou *Stropharia*.

Dans les classifications antérieures, plusieurs espèces actuellement regroupées sous *Pholiota* étaient distribuées dans divers genres en fonction de leur écologie ou de leur morphologie. Toutefois, grâce à l'émergence de la phylogénie moléculaire, la classification moderne de *Pholiota* se base principalement sur l'examen de l'ADN ribosomal, ce qui a facilité une meilleure délimitation du genre et l'exclusion de certaines espèces qui étaient précédemment incluses par erreur. Par conséquent, la classification contemporaine reflète une compréhension plus exacte des relations évolutives au sein du groupe. (Moncalvo, et al., 2002)

La taxonomie de *Pholiota carbonaria* selon Quadraccia et Lunghini, (1990) :

- **Règne** : Fungi.
- **Division** : Basidiomycota.
- **Classe** : Agaricomycetes.
- **Ordre** : Agaricales.
- **Famille** : Strophariaceae.
- **Genre** : *Pholiota*.
- **Espèce** : *Pholiota carbonaria*.

Chapitre 2 : Champignon basidiomycète *Pholiota carbonaria* de la famille Strophariaceae, description et propriétés biologiques

4.3. Mode de vie

Le champignon *Pholiota carbonaria* manifeste un processus de croissance complexe, associant des approches saprophytes et endophytes. Des observations en laboratoire ont montré qu'il construit des structures spécialisées, comme les appressoriums dotés de peg de pénétration, sur les spores en germination et les protonémas du *Polytrichum commune* (Raudabaugh, et al., 2021).

Ces configurations autorisent le champignon à coloniser les rhizoïdes mûrs de la mousse, instaurant par conséquent une relation endophyte sans symptômes. De surcroît, *P. carbonaria* a la faculté de générer des basidiomes matures en culture, prouvant son aptitude à la reproduction sexuée en milieu de laboratoire. Cette flexibilité dans ses approches nutritionnelles indique que le champignon a la capacité de s'acclimater à différents environnements, en particulier suite à des incendies, en tirant parti des ressources présentes dans les tissus végétaux ou en se nourrissant de matière organique décomposée. (Raudabaugh, et al., 2021)

4.4. Répartition géographique et l'habitat

La *Pholiota carbonaria* privilégie les environnements ouverts, notamment les lieux affectés par le feu tels que : les bois en combustion et les charbonnières laissées à l'abandon.

Elle a l'habitude de créer des colonies éparpillées ou en petits groupes, surtout au printemps et à l'automne, même si on peut la voir toute l'année dans certaines zones.

Cette espèce est présente dans plusieurs régions du monde notamment : Amérique du Nord (On la trouve souvent dans l'ouest des États-Unis, particulièrement en Californie et dans l'État de Washington.) ; Europe (en France) et Asie (Raudabaugh, et al., 2021).

Chapitre 2 : Champignon basidiomycète *Pholiota carbonaria* de la famille Strophariaceae, description et propriétés biologiques

4.5. Propriétés biologiques et biochimiques des *Pholiota carbonaria*

Le champignon *Pholiota carbonaria*. Même si les études spécifiques sur ses caractéristiques biologiques et biochimiques sont restreintes, certaines recherches sur des champignons similaires du genre *Pholiota* fournissent des perspectives intéressantes.

4.5.1. Propriétés biologiques

Sur le plan biologique, il a un rôle crucial dans la décomposition de la matière organique et la réhabilitation des sols après un incendie. Certaines recherches ont souligné sa relation symbiotique avec un certain nombre de plantes, y compris la mousse *Polytrichum commune*. Lors d'une étude in vitro, *P. carbonaria* a montré sa capacité à établir des structures d'appressorium sur les protonémas de la mousse, en infiltrant les cellules végétales sans causer de dégâts apparents, ce qui indique une relation endophyte asymptomatique (*Raudabaugh, et al., 2021*).

4.5.2. Propriétés biochimiques

Le champignon *Pholiota squarrosa*, connu par leur composition en composés bioactifs. Les recherches ont mis en évidence la présence de plusieurs acides phénoliques, dont l'acide p-coumarique, l'acide férulique, l'acide chlorogénique et l'acide sinapique, à des concentrations significatives. Par ailleurs, on a identifié des flavonoïdes tels que la naringénine, la quercétine et le kaempférol, avec des taux qui excèdent 21 mg/kg de matière sèche, il a une richesse en ergostérol (précurseur de la vitamine D2) (*Szwajkowska-Michalek, et al., 2022*).

Matériel et méthodes

1. Récolte et préparation de la matière fongique

La cueillette du champignon *Pholiota carbonaria* a eu lieu en 2024 à Constantine (**figure 8**). Il se développe naturellement sur des terrains brûlés, généralement suite à des feux de forêt. Après, le nettoyage, il a été découpé en petits morceaux, puis, séché à une température ambiante de 25 °C et ensuite réduit en poudre. La poudre obtenue a servi à l'extraction des métabolites secondaires.

L'identification taxonomique de l'espèce a été réalisée au niveau du laboratoire de Génies microbiologiques et applications, par Dr. TOUMI Mohammed Esseddik, en utilisant une méthode macroscopique.



Figure 8: Champignon *Pholiota carbonaria* collecté au niveau de la forêt de Chetaba-Constantine.

2. Extraction des molécules bioactives

Afin d'isoler les molécules d'intérêt, qu'elles soient polaires ou apolaires, on a mis en œuvre deux techniques d'extraction selon le procédé de (**Kebaili, 2022**).

2.1. Extraction solide /liquide

L'extraction solide-liquide a été réalisée par une macération de la poudre fongique (50 g) dans un volume de 500 ml d'un système solvant constitué de méthanol absolu (MeOH) et l'eau distillée (80/20, v/v). Le mélange obtenu sera ensuite remué à basse température pendant 24 heures, puis filtré à l'aide du papier Whatman n° 1. Le résidu solide est récupéré pour être à nouveau re-extrait deux fois avec le même solvant. Les filtrats recueillis seront par la suite séchés à l'aide de l'évaporateur rotatif (Büchi R-210) (**Figure 9**), pour produire l'extrait brut (hydro-MeOH) qui sera employé dans le processus d'extraction liquide-liquide.



Figure 9: Évaporation du solvant à l'aide d'un évaporateur rotatif.

2.2. Extraction liquide /liquide

La séparation des molécules bioactives selon leur polarité, est réalisée par une extraction liquide-liquide (**figure 10**), en utilisant des solvants de polarité ascendante : le chloroforme, l'acétate d'éthyle, le n-butanol et enfin l'eau distillée.

Après l'élimination du solvant, les quatre fractions récupérées sont concentrées et pesées pour calculer le rendement d'extraction. Ainsi, stockés à 4 °C jusqu'à ce qu'ils soient utilisés ultérieurement.

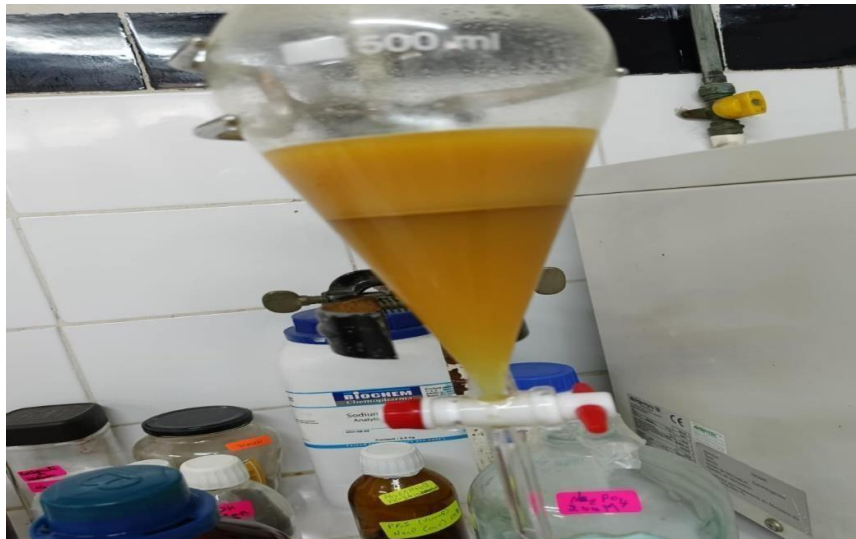


Figure 10: Extractions liquide-liquide et séparation de deux phases : organique et aqueuse.

3. Calcul du rendement

Le rendement fait référence à la quantité d'extrait récupéré, exprimée en pourcentage de la masse initiale du champignon employé lors de l'extraction. Le calcul du ratio suivant a permis de déterminer les rendements de notre champignon en extrait sec :

$$\text{Rdt (\%)} = (\text{PE} / \text{PM}) \times 100$$

Rdt : Rendement d'extraction

PE : poids de l'extrait sec suite à l'évaporation du solvant.

PM : masse sèche du matériel fongique de départ.

4. Analyse qualitative des extraits par screening chimique

L'analyse des métabolites secondaires est un examen qualitatif qui permet d'identifier la présence ou l'absence de composés chimiques tels que : les alcaloïdes, les saponines, les polyphénols, et flavonoïdes (**Bruneton, 1993**).

Il s'agit de tests initiaux de colorimétrie, de solubilité et de précipitation destinés à détecter la présence des grandes catégories de métabolites secondaires (**Kebaili, 2022**).

- Les polyphénols

Dans un tube à essai, on a combiné 1 ml de l'extrait brute avec trois gouttes de FeCl_3 à 5%. L'apparition de couleurs telles que le bleu, le vert, le noir, le violet ou le rouge signale la présence de phénols.

- Les flavonoïdes

Dans un tube à essai, on mélange 2 mL de l' extrait brute avec 0,5 ml d'HCl concentré et 0,5g de tournure magnésienne. Après trois minutes, une teinte rose/rouge se manifeste, signalant la présence de flavonoïdes

- Les tanins

L'ajout de quelques gouttes de FeCl_3 (1%) à 1mL de l'extrait brute met en évidence la présence de tanins. L'apparition d'une couleur bleu-noir signale la présence de tanins galliques, tandis que la couleur verte/bleue atteste de la présence de tanins catéchiques.

- Les anthocyanes

On identifie la présence d'anthocyanes en ajoutant 5 mL d'acide sulfurique H_2SO_4 et 5 mL d'ammoniaque (NH_4OH) à 2 mL de l'extrait brute. L'apparition d'une teinte rose/rouge ou bleue violacée signale la présence d'anthocyanes.

- Les alcaloïdes

On prépare deux tubes en mélangeant 5 ml de l'extrait brute et 1 mL de H_2SO_4 dilué (1/2), en utilisant deux réactifs distincts, l'un étant le réactif de Mayer et l'autre le réactif de Wagner. L'apparition d'une turbidité ou précipitation après quinze minutes signale la présence d'alcaloïdes.

- Les saponosides (test de la mousse)

L'identification des saponosides a été effectuée en diluant 2 mL de l'extrait avec de l'eau distillée afin d'obtenir un volume total de 10 mL. Le mélange est ensuite porté à ébullition

pendant une demi-heure. Tous les tubes sont vigoureusement secoués en position horizontale pendant quinze secondes. Nous dévoilons l'intensité de la mousse durable.

- Absence de mousse signifie un test négatif.
- Mousse inférieure à 1 cm = test légèrement positif.
- Formation de mousse de 1 à 2 cm = résultat positif au test.
- Plus de 2 cm de mousse = test hautement positif.

- Les composés réducteurs

Un millilitre de l'extrait brute a été placé dans un tube contenant 1ml d'eau distillée. On ajoute ensuite vingt gouttes de la liqueur de Fehling, puis on chauffe le mélange. L'apparition d'un précipité de couleur rouge brique reflète la présence de composés qui réduisent.

5. Analyse quantitative des composés phénoliques et flavonoïdes

5.1. Dosage des polyphénols totaux

- Principe

L'évaluation des polyphénols totaux ont été effectuée par spectrophotométrie, en suivant la technique colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (FCR). Cette mesure est fondée sur l'évaluation de la concentration globale des groupements hydroxyles contenus dans l'extrait.

- Mode opératoire

Le protocole suit la méthode de **Singleton, Orthofer et Lamuela-Raventós,(1999)**, modifiée légèrement. Pour faire court, on a ajouté un volume de 200 μ L de chaque extrait dans des tubes en verre de 5 mL. On a mélangé avec 1 mL du FCR (dilué 1/10) et 500 μ L d'une solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 à 7,5 % (7.5 g dans 100 d'eau distillée) pour alcaliniser le milieu et favoriser la réaction d'oxydoréduction.

Après, le mélange est incubé à température ambiante, pendant une demi-heure. L'intensité de la coloration bleue générée a été quantifiée en utilisant un spectrophotomètre Jenway 7315 Advanced UV/Visible à une longueur d'onde de 765 nm.

La détermination des polyphénols totaux a été effectuée en se basant sur l'une des courbes d'étalonnage obtenue à partir de l'acide gallique (standard) à diverses concentrations (25, 50, 75, 100, 125, 150 µg/mL), dans les mêmes conditions que pour les extraits. Les résultats sont présentés en équivalents microgrammes d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg GAE/mg d'Ext).

5.2. Dosage des flavonoïdes totaux (TF)

- Principe

Les flavonoïdes totaux (TF) ont été dosés selon le protocole décrit de **Shraim et al , (2021)** avec quelques modifications. L'évaluation de la teneur en flavonoïdes dans les différents extraits, se fait par l'application de la méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl_3). En effet les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre en position 5, susceptible de réagir avec l' AlCl_3 , en formant un complexe jaunâtre par la chélation de l'ion Al^{3+} . La coloration jaunâtre produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait, dont l'absorbance est mesurable à 415 nm.

- Mode opératoire

Dans un tube en verre à hémolyse, 250 µl d'extrait (1mg/ml) ou de référence, ou encore méthanol en guise de contrôle, ont été ajoutés à 100 µl d'acétate de sodium ($\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$) à 5%. Après 5 minutes, on ajoute 100 µl d' AlCl_3 à 10%, puis on mélange énergiquement le milieu. Après une incubation de 40 minutes à l'abri de la lumière, en utilisant un spectrophotomètre Jenway 7315 Advanced UV/Visible à une longueur d'onde de 415 nm.

Un échantillon témoin est préparé en mélangeant 250 µl méthanol, 100 µl de sodium acétate à 5 % et 100 µl d' AlCl_3 à 10 %.

Les TF sont déterminées en se basant sur l'équation de la régression linéaire du modèle d'étalonnage de Rutine à diverses concentrations (12,5, 25, 50, 100, 125 et 250 µg/mL) et suivant les mêmes conditions et étapes de mesure. Les résultats sont présentés en microgrammes de Rutine équivalents par milligramme d'extrait (µg RE/mg d'extrait).

6. Etude *in vitro* de l'Activité antioxydante

Le potentiel antioxydant de divers extraits de *Pholiota carbonaria* a été déterminé, en utilisant deux techniques : l'activité anti-radicalaire du DPPH• et le test du pouvoir réducteur du fer (FRAP). Nous faisons une comparaison avec une molécule de référence : alpha-tocophérol.

6.1. Activité anti-radicalaire au DPPH•

De nombreuses techniques sont employées pour évaluer l'activité antioxydante des extraits de produits naturels. Un grand nombre de ces techniques reposent sur la teinture ou la décoloration d'un agent réactif dans l'environnement réactionnel. Nous avons employé le test au DPPH (2,2–diphényl-1-picrylhydrazyle) pour examiner l'activité antiradicalaire des extraits de *Pholiota carbonaria*

- Principe

L'essai antiradicalaire au DPPH• est considéré comme l'un des tests majeurs utilisés pour étudier l'emploi des extraits de produits naturels en tant qu'antioxydants **Markowicz Bastos, et al., (2007)**. Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH•), qui est un radical libre stable, détient un électron isolé, non associé, sur un atome d'azote (**Liang et Kitts, 2014**).

Lorsqu'il est en présence d'un antioxydant, le radical DPPH• se transforme en diphényl-picrylhydrazine (DPPH, H), entraînant une diminution de la puissance d'absorption et une décoloration stoechiométrique correspondant au nombre d'électrons captés (**Markowicz Bastos, et al., 2007**) (**Figure.8**). Cette réaction a lieu dans des conditions de température ambiante et d'obscurité, pour prévenir toute dégradation des molécules sensibles à la chaleur et à la lumière. On mesure l'absorbance à une longueur d'onde de 517 nm.

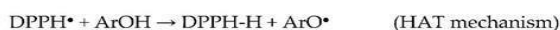
- Mode opératoire

La capacité antioxydante des extraits a été testée par la technique des radicaux libres DPPH, conformément à (**BLOIS, 1958**) et (**Tél, Apaydin, Duru, et Öztürk, 2011**) Méthode avec quelques mises à jour. Les quatre extraits ont été fabriqués à partir de huit tubes Eppendorf (chloroforme, acétate d'éthyle, n-but et aqueux). 0.5 ml d'extrait ont été ajoutés à 1.5 ml de méthanol (ou d'eau distillée pour l'extraction aqueuse) dans chaque eppendorf. Pour ajuster la concentration, une double dilution a été réalisée dans chaque tube. Après dilution, 120 µl de chaque extrait ont été transférés dans des tubes à essai. Chaque échantillon contenait 480 µl

Matériel et méthodes

d'une solution méthanolique de DPPH (0, 2 mM). Dans l'obscurité, le mélange a été incubé à température ambiante pendant 30 minutes. À l'aide d'un spectrophotomètre, l'absorbance a été mesurée à 517 nm. Un observateur négatif (DPPH seul dans le méthanol) a servi de source. Chaque extrait a été testé en triple pour assurer la précision de la précision des résultats. Nous exprimons l'activité antioxydante de nos extraits en termes d'IC₅₀, un paramètre qui correspond à la concentration de l'antioxydant nécessaire pour diminuer de 50% l'activité du DPPH.

Chemical reactions:



where ArOH: phenolic AO

Mechanism of reaction: HAT

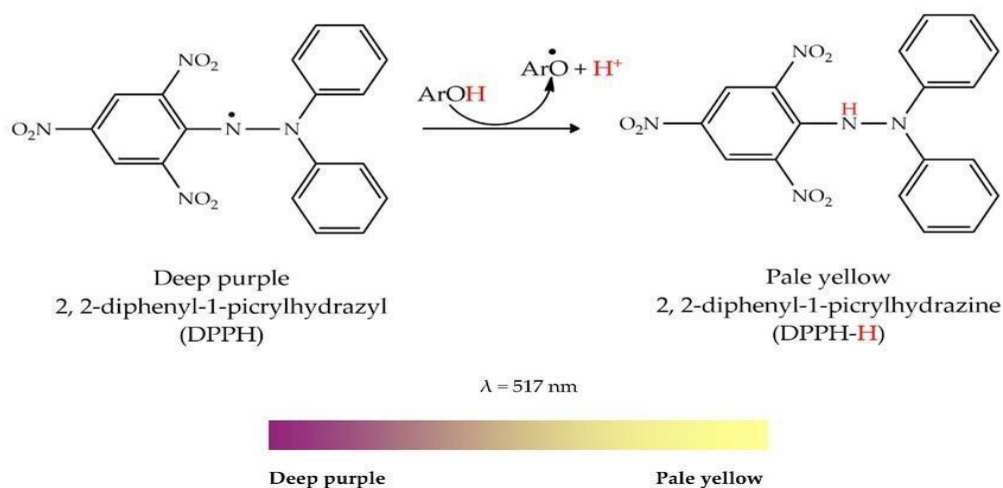


Figure 11 : Mécanisme de réaction du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) avec l'antioxydant (Bibi Sadeer et al ., 2020)

Les moyennes des valeurs d'IC₅₀ ont été déterminées à l'aide de régressions linéaires sur trois tests distincts pour lesquels l'axe des abscisses indique la concentration des composés testés et l'axe des ordonnées montre le taux d'inhibition du radical DPPH, calculé selon la formule ci-dessous :

$$I \% = [(\text{Abs Control négatif} - \text{Abs Echantillon}) / \text{Abs Control négatif}]$$

I % : Pourcentage de l'activité antiradicalaire.

Abs Echantillon : Absorbance de l'échantillon.

Abs Control négatif : Absorbance du control négatif.

La solution de DPPH dissoute dans le méthanol pur constitue le contrôle négatif, tandis que le contrôle positif correspond à une solution Rutine, un antioxydant standard. Les extraits étaient préparés à des concentrations de 12,5 ; 25 ; 50 ; 100 ; 200 ; 400 et 800 µg/mL.

6.2. Test du pouvoir réducteur (FRAP)

C'est une méthode spectrophotométrique facile et économique, qui a été initialement utilisée pour le plasma, mais qui a ensuite été élargie à d'autres liquides biologiques, y compris les aliments, les extraits de plantes et les jus. Effectivement, le Fe^{3+} contribue à la création du radical hydroxyle par le biais de la réaction de Fenton (**Boussayoud et Chaibeddra, 2021**).

- Principe

Une autre variante de la méthode FRAP, le test au potassium ferricyanide $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, repose sur la transformation du $\text{Fe}(\text{III})$ en $\text{Fe}(\text{II})$. On peut l'utiliser pour évaluer le potentiel réducteur des antioxydants. Lors de la réaction entre l'échantillon ciblé et le potassium ferricyanure- $\text{Fe}(\text{III})$, divers complexes colorés peuvent se former. Où la teinte change du jaune au bleu de Prusse (bleu-vert). Dans ce test, la teinte du chromogène produit varie en fonction de l'échantillon analysé (**Figure 9**). illustre le processus de la réaction et la modification de couleur (**Bibi Sadeer et al., 2020**).

- Mode opératoire

La réduction de l'activité antioxydante des extraits a été mesurée par le dispositif de puissance antioxydante réductrice ferrique (FRAP), qui a été adapté de **Oyaizu, (1986)**. Huit tubes Eppendorf ont été fabriqués pour les quatre extraits (chloroforme, acétate d'éthyle, N-But et Aqueux). 0.5 ml d'extrait ont été ajoutés à 1.5 ml de méthanol ou d'eau distillée pour la solution aqueuse, puis dilués dans chaque tube, entraînant une double dilution. 100 µl de chaque extrait à diverses concentrations (allant de 3.125 à 200 µg /mL) ont été ajoutés à des tubes à essai contenant 400 µl de tampon de phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 500 µl de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à une concentration de 1%. Reformuler Les mélanges ont été incubés au bain-marie à 50°C pendant 20 minutes. Après refroidissement, 500 µl d'acide trichloroacétique (10%), 400 µl d'eau distillée et 100 µl de chlorure ferrique FeCl_3 à 0,1%. ont été ajoutés, Chaque analyse a été effectuée en triple.

Matériel et méthodes

La mesure de l'absorbance a été prise à 700 nm en utilisant un blanc préparé de manière similaire, où l'extrait est substitué par le solvant. Une solution d'un antioxydant standard (Alpha-tocophérol), qui a été testée dans les mêmes conditions que les échantillons, représente le contrôle positif.

L'augmentation de l'absorbance est liée à un accroissement du pouvoir réducteur des échantillons examinés.

Chemical reaction:



Mechanism of reaction:

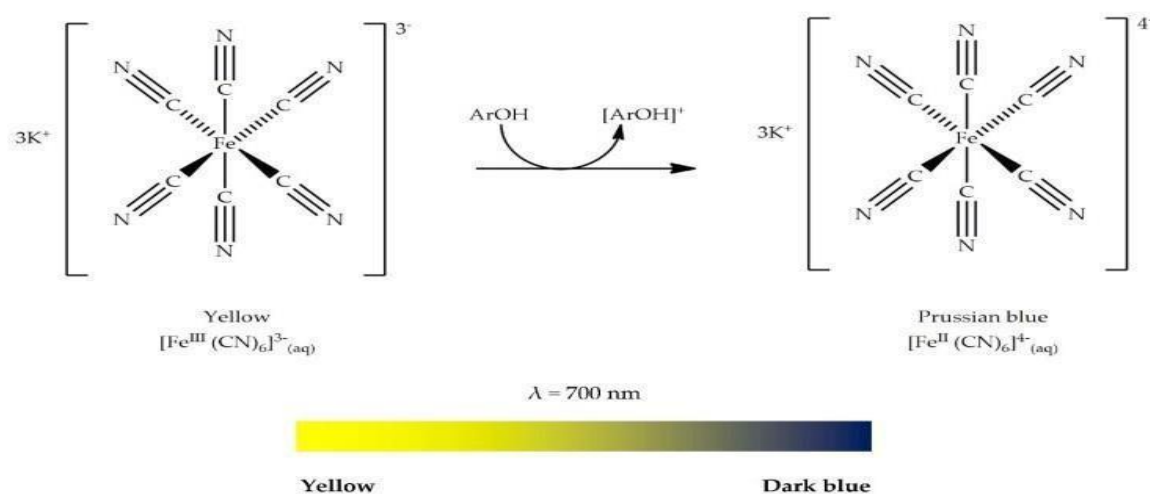


Figure 12 : Le mécanisme de réaction du potassium ferricyanide [K₃Fe (CN)₆] dans le test du pouvoir réducteur du Fe⁺³ par un antioxydant (Bibi Sadeer et al ., 2020)

7. Evaluation de l'activité bactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits du champignon *Pholiota carbonaria* est réalisée par rapport à trois souches bactériennes en utilisant la technique de diffusion des puits sur gélose.

Il s'agit de la méthode fondamentale employée pour examiner le potentiel d'un composé à avoir un effet antimicrobien, également connue sous le nom : technique de dilution en gélose pour identifier les extraits actifs.

Des boîtes de Pétri remplies de milieu d'agar Mueller Hinton sont inoculées aseptiquement avec une suspension de 10^6 cellules/ml correspond à une ABS de 0.100 à 0.200 à une longueur d'onde de 620 nm, issue d'une culture récente de bactéries, selon le cas. L'inoculation se réalise par l'utilisation d'un écouvillon.

Le centre de la gélose est percé à l'aide de l'extrémité supérieure d'une pipette Pasteur. Les cavités créées sont remplies avec la solution aqueuse de chaque extrait (4 extraits) de cendre à une concentration de 100g/L, ce qui correspond approximativement à 40 μ L par puits. Les boîtes sont incubées dans une étuve à 37°C pendant une journée pour les bactéries. (**Khebichat, 2013**)

L'inhibition se révèle par la création d'une couronne autour des puits. L'interprétation des résultats se fait en mesurant les diamètres des zones d'inhibition. On considère qu'un produit est actif si le diamètre de la zone d'inhibition dépasse 8 mm (**Ela et al ., 1996**).

8. Analyse statistique

Les résultats ont été présentés en moyenne \pm écart-type. L'équation de régression linéaire a été utilisée pour calculer l'IC₅₀. L'analyse de la variance (ANOVA) a été réalisée en utilisant le programme GraphPad Prism (version 8). Le test post hock de Tukey a été utilisé pour déterminer les différences notables entre les moyennes, avec un seuil de signification statistique fixé à $P < 0,05$.

Résultats et Discussion

1. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est un indicateur crucial en chimie analytique et en ingénierie des procédés, puisqu'il évalue la performance avec laquelle une substance ciblée est extraite d'un mélange ou d'une matrice spécifique (**Harris, 2015**). On le représente habituellement en pourcentage, en déterminant la quantité de matière récupérée par rapport à la quantité initiale. Une haute productivité témoigne d'une extraction efficace, est essentielle pour optimiser les procédés, minimiser les pertes et améliorer la qualité des produits. (**Azwanida , 2015**).

Le tableau 2 présente les rendements d'extraction. On peut noter une vaste fluctuation dans le rendement de chaque sorte d'extrait. Habituellement, l'extrait butanolique (Ext- n-But) a présenté un meilleur rendement que les autres types d'extractions avec 27,054%, suivi de l'extrait aqueux (Ext- aqueux), de chloroformique (Ext-Chl) et de l'acétate d'éthyle (Ext-AcEt) avec 14,51%, 0,53% et 0,36% respectivement.

La polarité des différents produits chimiques présents dans chaque extrait est à l'origine de la variation des rendements d'extraction. La différence entre nos valeurs et celles d'autres études peut être attribuée à divers facteurs, notamment les méthodes d'extraction, la température et la durée, le stade de récolte, la taille et le cycle de vie des champignons, le rapport solvant/échantillon et, enfin, le type de solvant utilisé. Ces facteurs peuvent varier considérablement d'un échantillon à l'autre, ce qui rend difficile la comparaison avec les résultats d'autres études (**Toumi, et al., 2025**).

Résultats et discussion

Tableau 2: Rendement des extraits de *Pholiota carbonaria*

Extrait	Ext-AcEt	Ext-Chloro	Ext-n-But	Ext- aqueux
Rendement (%)	0.36	0.53	27.054	14.51

Les divers rendements présentés dans le tableau corroborent les conclusions de l'étude menée par **Kebaili F. F., (2022)**. Cette recherche révèle que les valeurs des rendements des extraits de *G.lucidum* (acétate d'éthyle 0,63%, n-butanol 1,42%, chloroforme 0,46% et aqueux 5,72%). Toutefois, on note quelques variations mineures. Dans leur recherche, **Cho, et al., (2006)** annoncent avoir obtenu une valeur de 58,7% pour l'extrait aqueux de *Pholiota adiposa* ASI 24027. Dans son étude, le chercheur **Li, et al., (2023)** affirme avoir obtenu une valeur de $6,85 \% \pm 0,13 \%$. Après l'extraction de *Stropharia rugosoannulata* par sulfate d'ammonium, 20%, et butanol assistée à une température de 35°C.

Le rendement le plus important obtenu avec l'extrait au butanol comparativement aux autres types d'extraits (comme celui à l'eau, à l'éthanol, au chloroforme, etc.) Cela indique que le butanol est un solvant plus performant pour l'extraction des composés bioactifs présents dans l'échantillon étudié (*Pholiota carbonaria*). Ceci pourrait être attribué à sa polarité intermédiaire, qui lui donne la capacité d'isoler des métabolites à la fois hydrophiles et modérément lipophiles. ce qui pourrait suggérer une plus grande solubilité de ces composés dans le butanol (**Sasidharan , et al., 2011**).

2. Analyse qualitative de différents métabolites secondaires (screening chimique de champignon)

Selon **Derbak, (2024)**, les attributs bio-thérapeutiques des produits naturels tels que les plantes, les herbes médicinales et même les champignons sont dus à leurs constituants chimiques, surtout les composés phénoliques, les flavonoïdes et les alcaloïdes, les tannins et d'autres composés.

Les résultats concernant l'identification des métabolites secondaires extraits de notre champignon ont été compilés dans **le tableau 3**.

Le screening mycochimique a révélé l'absence des flavonoïdes, alors que les anthocyanes, les tanins, les phénols, les composés réducteurs, les saponosides et les alcaloïdes sont présents dans l'extrait brut (MeOH 80%).

Tableau 3 : Résultats de screening chimique des extraits de champignon.

Constituant	Présence (+) / absence (-)
Flavonoïdes	—
Tanins	+ + +
Anthocyanes	+ +
Alcaloïdes	
• Test de Mayer	+ +
• Test de Wagner	+ +
Phénols	+ + +
Composés réducteurs	+
Saponosides	+ + (1,2 cm)

Les symboles (+++), (++), (+) représentent respectivement une forte, moyenne et faible présence de substances chimiques, tandis que le signe (-) signale l'absence de ces molécules.

Résultats et discussion

Ces biomolécules détiennent un ou plusieurs effets thérapeutiques pour l'être humain. Nous avons remarqué l'absence des flavonoïdes, la raison pour laquelle, la couleur n'a pas changé lors de l'ajout d'HCl et du sel de magnésium. Une forte présence des tannins a été observée après la réaction avec le chlorure ferrique 1%, en plus, les réactifs de Mayer et Wagner ont réagi avec les alcaloïdes du champignon, où nous avons trouvés une forte turbidité dans chaque tube test.

Nos résultats globaux correspondent à ceux documentés par **Toumi, et al., (2025)**, qui ont analysé la composition des métabolites secondaires du champignon *Cyclocybe cylindracea* souche TMES43, qui est considéré comme étant du même ordre que *Pholiota carbonaria*.

Les composés réducteurs présents chez les champignons sont cruciaux pour leur action à la fois antioxydante et antibactérienne. Ils servent de neutralisateurs pour les radicaux libres, offrant ainsi une protection aux cellules face aux atteintes oxydatives. De plus, leur faculté à altérer les membranes cellulaires bactériennes et à bloquer certaines enzymes en fait un potentiel intéressant pour l'élaboration d'agents antimicrobiens naturels (**Ferreira, Barros et Abreu, 2009**).

Grâce à leur faculté de moduler les systèmes enzymatiques et d'interagir avec les membranes cellulaires, les saponosides contribuent à diminuer le stress oxydatif. Quant aux tanins, ces composés phénoliques astringents, ils se comportent comme des chasseurs de radicaux libres et des inhibiteurs de l'oxydation des lipides, consolidant de ce fait les mécanismes de défense naturels contre les dommages oxydatifs. La combinaison de ces deux catégories de composés confère aux champignons un fort potentiel en tant que sources naturelles d'antioxydants (**Gürgeç, et al., 2017**)

Les métabolites secondaires des champignons sont indispensables pour la défense, la communication entre espèces et l'adaptation à l'environnement. Plusieurs facteurs peuvent influencer leur production, comme l'expression génétique, la composition du milieu de culture, la température, le pH, l'éclairage ou encore les interactions avec d'autres micro-organismes.

Ces variations affectent non seulement le volume de production, mais également la nature des métabolites produits, ce qui rend leur contrôle complexe et largement tributaire des conditions extérieures (**Brakhage, 2013**). Cela peut aussi être attribué à la méthode d'extraction, au solvant, à la granulométrie de la poudre, ainsi qu'aux conditions et à la durée de conservation de l'échantillon (**Tan, et al., 2013**)

Le genre de métabolites secondaires extrait à partir des champignons ou d'autres sources naturelles est largement influencé par la polarité des solvants utilisés lors de l'extraction. De manière générale, les solvants polaires tels que l'eau sont plus efficaces pour isoler des composés hydrophiles comme les phénols, flavonoïdes, tanins et certains saponosides. Cependant, des solvants moins polaires tels que le chloroforme et éther-diethyle favorisent l'extraction de métabolites plus lipophiles (apolaires) comme les stéroïdes, les terpènes ou les alcaloïdes. La sélection du solvant affecte non seulement le taux d'extraction, mais aussi la composition chimique et les caractéristiques biologiques de l'extrait final. (**Dai et Mumper, 2010**).

3. Analyse quantitative des substances bioactives (polyphénols et flavonoïdes totaux)

Les champignons comestibles, en particulier ceux appartenant au genre *Pholiota*, sont riches en flavonoïdes et polyphénols qui agissent comme des antioxydants naturels importants, diminuant de ce fait le stress oxydatif et participent à la prévention des maladies chroniques. Par exemple, des recherches ont démontré que *Pholiota adiposa* présente une activité antioxydante notable due à sa teneur en composés phénoliques tels que le méthyl gallate (**Tavernini, et al., 2020**)

Les teneurs en PT des extraits du champignon sont représentées dans le (**tableau 4**), et ont été exprimées en microgrammes équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g GAE/mg d'extrait}$), en utilisant l'équation de la régression linéaire des courbes d'étalonnage tracée à partir de l'acide gallique (**Figure 13**).

Résultats et discussion

Les teneurs en flavonoïdes totaux (FT), sont aussi ont exposé dans le (**tableau 4**) ; et elles sont exprimées en microgrammes équivalent de rutine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g RE/mg d'extrait}$), en utilisant l'équation de la régression linéaire des courbes d'étalonnage tracée à parti de la rutine (**Figure 13**).

Tableau 4: Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux des extraits de *Pholiota carbonaria*

Extraits	Polyphénols totaux (PT)	Flavonoïdes totaux (FT)
	($\mu\text{g EAG/mg Ext}$)	($\mu\text{g ER/mg Ext}$)
Ext-AcEt	33,56 \pm 8,21***	N
Ext-Chloro	28,82 \pm 3,77**	N
Ext-n-But	5,07 \pm 0,92	N
Ext- aqueux	5,21 \pm 2,24	N

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type de trois mesures (test Tukey, $p \leq 0,05$). Où *** indique une signification pour $P < 0,0001$; ** avec $p < 0,001$ respectivement. (Moy \pm SD, n=3) ; N : non détecté par le dosage.

Résultats et discussion

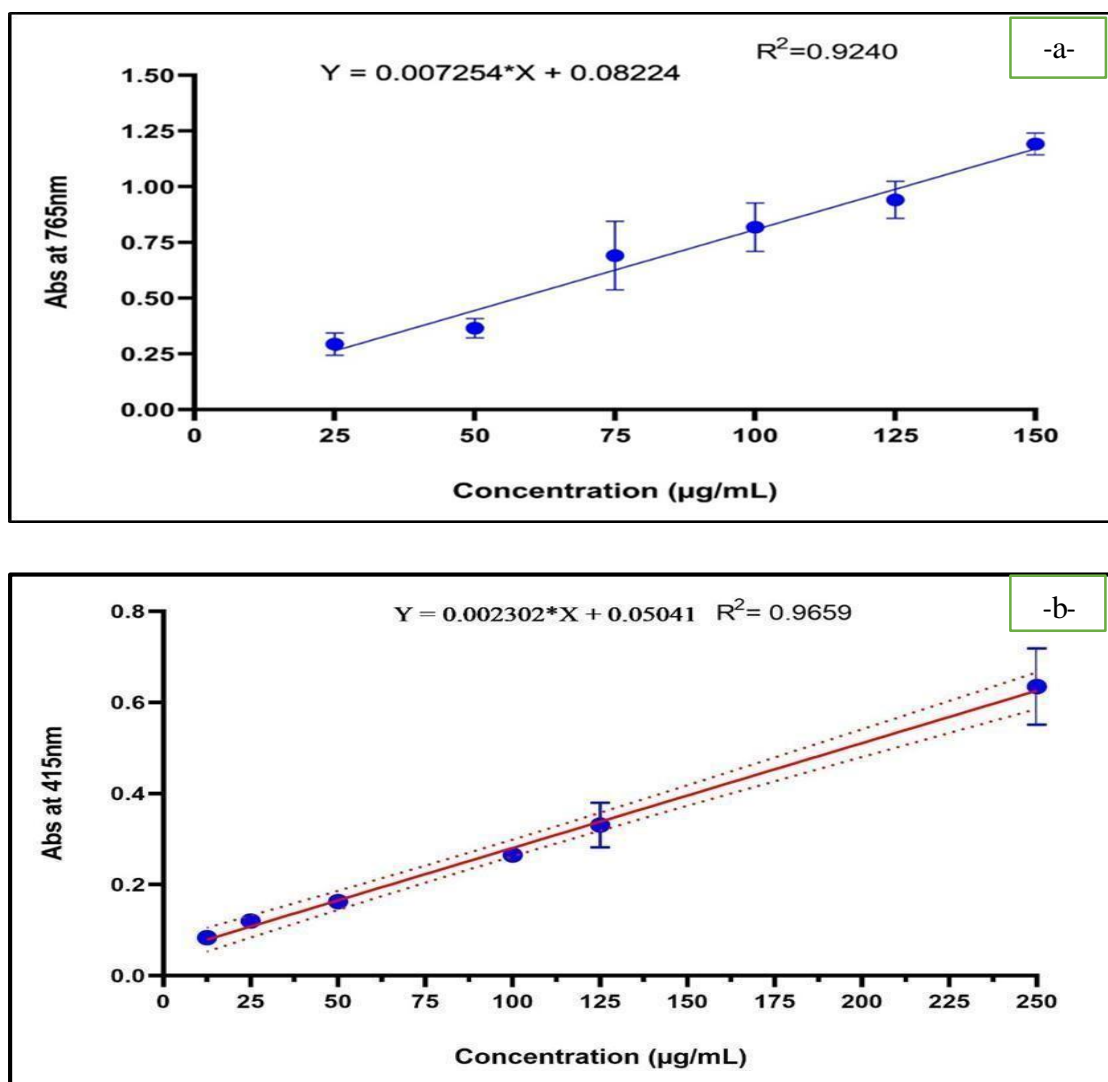


Figure 13 : Présente les courbes d'étalonnage utilisées dans le calcul de TP et TF : a- courbe de l'acide gallique ; b- Courbe de la rutine.

Le dosage par la méthode de Folin-Ciocalteu, a montré la présence des polyphénols à des concentrations importantes dans les extraits suivants : Ext-AcEt et Ext-Chloro. En outre, les deux autres ont de faibles TP.

L'extrait Ext-AcEt a montré la plus forte TP, avec une mesure de $33,56 \pm 8,217$ µg EAG/mg par rapport aux autres extraits. Ces résultats laissent à penser que le contenu en composés phénoliques dans les extraits analysés est lié à la polarité du solvant employé pour l'extraction.

Le tableau indique que les concentrations totales du flavonoïdes (TF) sont nulles, ce qui concorde avec l'observation obtenue lors de screening chimique.

Les résultats de l'analyses des extraits dans la présente étude sont clairement inférieurs à ceux rapportés par **Lin , et al., (2016)** qui ont mesuré une concentration de $43,55 \pm 0,10$ ($\mu\text{mol/L}$) GAE/mg d'extrait dans l'extrait aqueux de *Pholiota nameko*.

Elles sont également inférieures à celles rapportées par **Achouri Zouaoui et Lahneche, (2023)**; où le taux de polyphénols total de l'extrait méthanolique de *Cyclocybe sp* était de 53,52 mg EAG/mg Ext. Cependant ils sont supérieurs à ceux menés par **Lavega R. , et al., (2023)**; où la teneur de PT de l'extrait éthanolique de l'espèce *Pholiota nameko* était de 2,14 mg EAG/g Ext.

Habituellement, les niveaux de flavonoïdes et de polyphénols peuvent fournir une indication des propriétés antioxydantes des champignons. Notre recherche a démontré une faible concentration en polyphénols et une absence de flavonoïdes, ce qui indique que les champignons possèdent des propriétés antioxydantes plutôt modestes, à l'instar de ces variétés particulières.

Le choix du solvant influence de manière considérable le processus d'extraction et détermine la composition chimique de l'extrait, étant donné que les divers composés phénoliques présentent des polarités distinctes (**Kebaili F. F., 2022**). Ainsi, les paramètres d'extraction sont constamment ajustés afin de produire un extrait avec l'effet bioactif souhaité.

4. Evaluation d'activité antioxydante *in vitro*

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) constituent un dérivé du métabolisme cellulaire qui joue un rôle dans les processus biologiques visant à défendre notre corps contre les agents pathogènes. Toutefois, leur fort potentiel pro-oxydant peut nuire aux tissus et aux organes, et elles sont liées au vieillissement naturel ainsi qu'à plusieurs pathologies humaines comme le cancer, l'athérosclérose et le diabète (**Kebaili F. F., 2022**).

Résultats et discussion

Les antioxydants naturels sont des agents de capture des ERO qui préservent les tissus et les organes contre le stress oxydant. À l'heure actuelle, divers marchés industriels existent pour les antioxydants naturels utilisés comme composants dans les aliments fonctionnels et les cosmétiques (Kebaili F. F., 2022).

Dans cette recherche, le potentiel antioxydant a été évalué en employant différentes techniques, notamment l'activité anti-radicalaire au DPPH et l'essai du pouvoir réducteur (FRAP), des extraits (Ext-Chloro, Ext-AcEt, Ext-But et Ext-Aq) du champignon *Pholiota carbonaria* pour tester et évaluer leurs propriétés antioxydantes.

Tous les extraits ont montré une activité antioxydante dépendante de la dose. Les valeurs IC_{50} (pour le test de DPPH), et les concentrations correspondantes à $A_{0,5}$ (Test de FRAP) des extraits et d' α -Tocophérol sont présentées dans le **tableau 5**.

Tableau 5 : Activité antioxydante des extraits de *Pholiota carbonaria* et l' α -Tocophérol.

Extraits	DPPH	FRAP
	IC_{50} $\mu\text{g/mL}$	$[A_{0,5}]$ $\mu\text{g/mL}$
Ext-Chloro	>800	85,75 \pm 8,82*
Ex-n-But	>800	>200
Ext -AcEt	653,74 \pm 31,74*	70,46 \pm 6,65***
Ext-Aqueux	>800	>200
α -Tocophérol	13.02 \pm 5,17	34.93 \pm 2.38

IC_{50} : la concentration des pourcentages d'inhibition de 50% de DPPH et $[A_{0,5}]$: dans le test de frap on cherche la concentration qui réduit la moitié (1/2) d'absorbance du réactif, L' IC_{50} et $A_{0,50}$ ont été calculées par analyse de régression linéaire et exprimées en moyenne \pm écart-type.

4.1. Activité antiradicalaire Test de piégeage du DPPH•

L'activité antiradicalaire sur le DPPH• est illustrée par les pourcentages d'inhibition de chaque concentration (**Tableau 6**) et (**Figure 14**), de même que les valeurs IC_{50} (**Tableau 6**).

L'Ext-AcEt a démontré une activité antiradicalaire significative par rapport aux autres extraits, avec une IC_{50} égale à $653,74 \pm 31,74 \mu\text{g/mL}$ ($p < 0.0001$), cet extrait montre un taux d'inhibition varie entre 36.97 à 80.55 % pour les doses d'extrait allant de 12.5 à 800 $\mu\text{g/mL}$. En revanche, l' α -Tocophérol a affiché la plus forte activité antioxydante (IC_{50} : $13.02 \pm 5.17 \mu\text{g/ml}$). Alors que les extraits de chloroforme, de butanol et aqueux montrent une faible activité (IC_{50} : $> 800 \mu\text{g/ml}$).

Ces résultats sont corrélé avec le dosage, ils nous ont confirmé que cette activité de l'Ext-AcEt est combiné avec sa plus grande richesse en composés antioxydants.

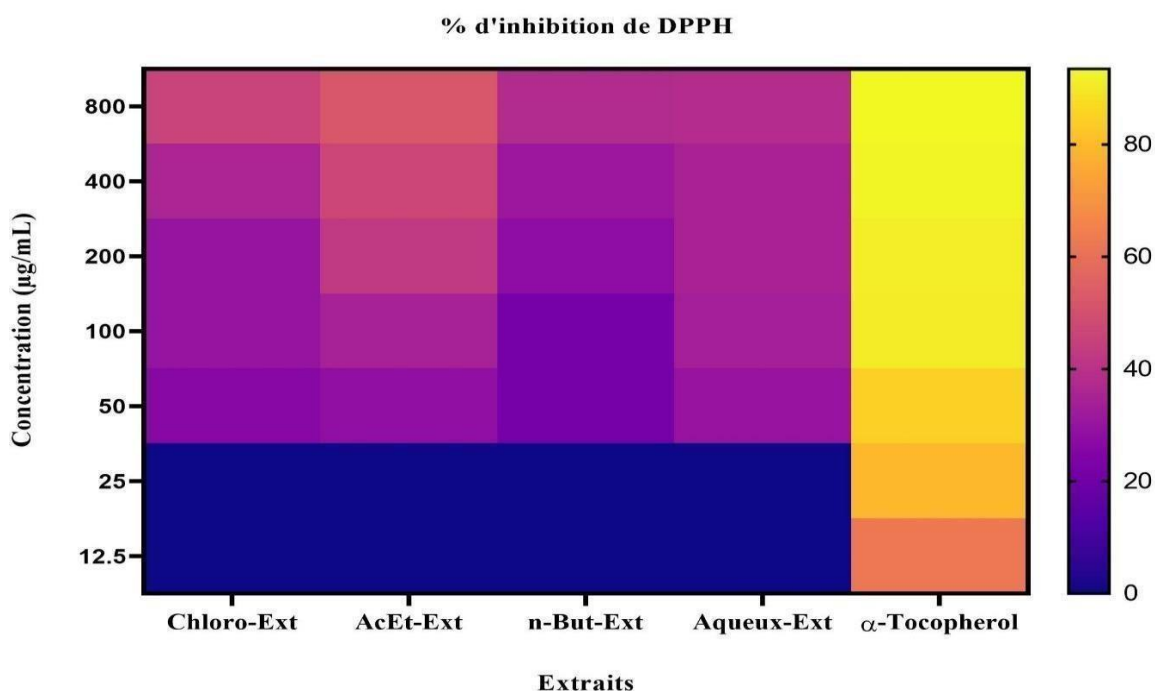


Figure 14 : Carte thermographique de l'activité antioxydante (%) des extraits et l' α -Tocophérol en fonction de la concentration. Les données sont présentées sous forme de moyennes \pm ET ($n = 3$). Résultats exprimés en moyenne \pm écart-type, avec n de répétitions = 3. Anova à 2 facteurs a été réalisé avec $p < 0,05$.

Résultats et discussion

Tableau 6 : Résultats : Variation du pourcentage d'inhibition de radical libre DPPH en fonction de l'augmentation de la concentration de chaque extrait.

Extraits	Ext- Chloro	Ext -n-But	Ext- AcEt	Ext-Aqueux	α -Tocophérol
Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Moyenne \pm écart-type				
0	0 \pm 0				
12,5	0 \pm 0				
25	0 \pm 0				
50	25,77 \pm 5,40	21,37 \pm 2,70	28,34 \pm 1,58	29,90 \pm 6,31	89,23 \pm 0,12
100	29,72 \pm 6,83	21,37 \pm 2,70	34,22 \pm 0,47	33,39 \pm 0,95	89,38 \pm 0,19
200	29,72 \pm 6,83	27,79 \pm 2,82	42,29 \pm 2,06	34,49 \pm 4,16	89,45 \pm 0,22
400	35,68 \pm 5,77	31,00 \pm 4,95	46,78 \pm 1,41	34,49 \pm 4,16	89,99 \pm 0,23
800	45,50 \pm 2,07	37,52 \pm 10,3	51,74 \pm 0,15	37,79 \pm 5,48	89,52 \pm 0,33
IC ₅₀	>800	>800	653,74 \pm 31,74	>800	13.02 \pm 5,17
**					

4.2. Pouvoir réducteur de fer (FRAP)

Les résultats de l'activité antioxydante mesurée par le test FRAP, sont illustrés dans la **figure 15** et le **tableau 7**. Ils indiquent en termes de changement d'absorbance en fonction avec les variations de concentrations.

Les résultats concernant l'évaluation de l'activité antioxydante à travers la réduction d'oxydation du fer sont présentés en concentrations ($\mu\text{g/mL}$) qui correspondent à une valeur d'Abs, en comparaison avec le composé standard à diverses concentrations (**Tableau 7** et **Figure 15**).

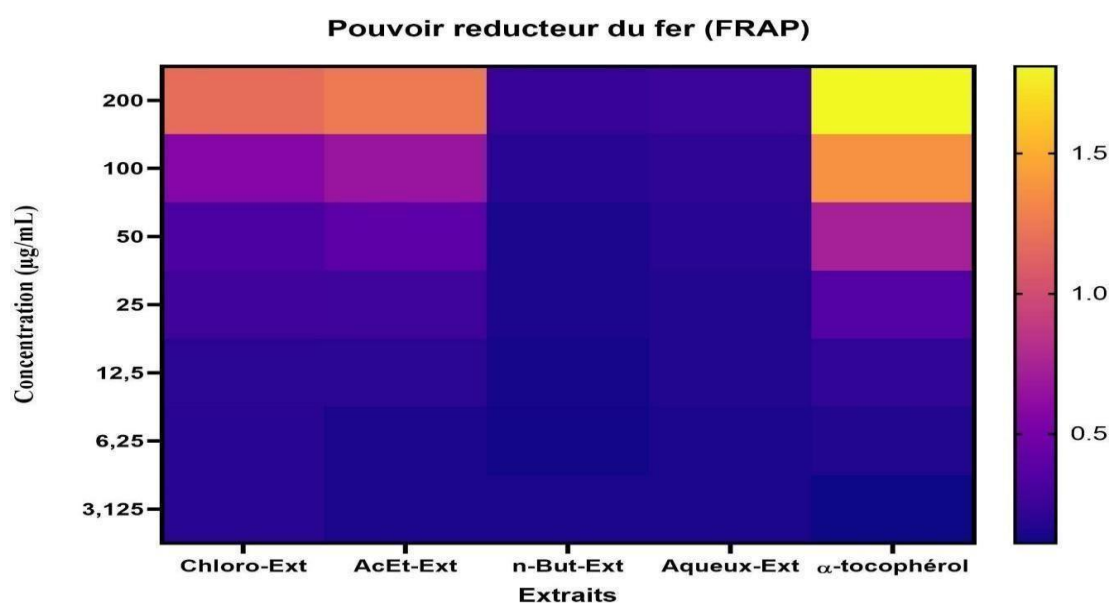


Figure 15 : Carte thermographique du pouvoir réducteur du fer (FRAP) en fonction de la concentration des extraits.

Résultats et discussion

Tableau 7 : Variation d’Absorbance (réduction du fer) en fonction de l’augmentation de la concentration de chaque extrait.

Extraits	Chloro-Ext	n-But-Ext	AcEt-Ext	Aqueux-Ext	α -Tocophérol
Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	moyenne \pm écart-type				
0			0 \pm 0		0
3,125	0,18 \pm 0,01	0,14 \pm 0,02	0,15 \pm 0,00	0,15 \pm 0,01	0,11 \pm 0,00
6,25	0,18 \pm 0,01	0,12 \pm 0,00	0,15 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01	0,16 \pm 0,00
12,5	0,19 \pm 0,02	0,13 \pm 0,01	0,19 \pm 0,02	0,16 \pm 0,02	0,21 \pm 0,03
25	0,27 \pm 0,00	0,14 \pm 0,00	0,26 \pm 0,03	0,16 \pm 0,03	0,35 \pm 0,03
50	0,32 \pm 0,04	0,14 \pm 0,00	0,39 \pm 0,05	0,18 \pm 0,00	0,73 \pm 0,03
100	0,57 \pm 0,04	0,18 \pm 0,04	0,66 \pm 0,03	0,20 \pm 0,00	1,37 \pm 0,08
200	1,18 \pm 0,10	0,23 \pm 0,03	1,25 \pm 0,07	0,25 \pm 0,04	1,81 \pm 0,09
C_{A0,5} ($\mu\text{g/mL}$)	85,75 \pm 8,82	>200	70,46 \pm 6,65**	>200	34,93 \pm 2,38

C_{A0,5} : est la concentration de l’extrait qui réduit la valeur de l’absorbance du fer à 0,5 à 510 nm.

Résultats et discussion

Les résultats indiquent que l' α -tocophérol a un pouvoir réducteur hautement significatif ($p < 0,0001$) avec un $CA_{0,5}$ de $34,93 \pm 2,38$ $\mu\text{g/mL}$. L'Ext-AcEt ($CA_{0,5} = 70,46 \pm 6,65 \mu\text{g/m}$), suivi par l'Ext-Chloro ($CA_{0,5} = 85,75 \pm 8,82$), ont un pouvoir significatif ($p < 0,001$) tandis que les Ext-Aqueux et l'Ext-n-But montrent une efficacité très faible > 200 $\mu\text{g/mL}$.

Ces résultats mettent en évidence la nécessité de choisir le bon solvant et de caractériser correctement les extraits pour optimiser leur activité biologique, et la nature des biomolécules présentées dans chaque extrait.

Les informations que nous avons sur l'activité de piégeage du radical DPPH surpassent celles mentionnées par **Lavega, et al., (2023)**. Ces derniers ont rapporté une activité de piégeage à une valeur d' $IC_{50} = 5.90 \pm 0.15$ mg/mL , issue de l'extrait éthanolique dérivé du mycélium du champignon comestible *Pholiota nameko* cultivé en La Rioja.

De plus le pouvoir réducteur de fer de nos extraits (FRAP) présente une signification notable comparativement avec celui de l'extrait éthanolique du *Pholiota nameko* qui a un pouvoir estimé à $11,81 \pm 0,24$ mM capacité antioxydante équivalente du Trolox /g d'extrait **Lavega, et al., (2023)**.

Selon notre recherche, l'extrait d'acétate d'éthyle a démontré une capacité de neutralisation des radicaux libres DPPH moins significative que celle signalée par **Kebaili F. F., (2022)** pour l'extrait d'acétate d'éthyle du champignon sauvage *G. lucidum* algérien ($IC_{50} : 28,51 \pm 0,24$ $\mu\text{g/mL}$).

Selon l'étude menée par **Achouri Zouaoui et Lahneche, (2023)** un résultat comparable a été observé chez le champignon comestible *Cyclocybe sp.*, à différentes concentrations, face aux radicaux libres. L' IC_{50} déterminée de l'extrait MeOH 80%, est de $582,67 \pm 19,48$ mg/mL contre le DPPH.

Nos constatations démontrent que la concentration de composés phénoliques dans le champignon analysé est notable, ce qui suggère que ces molécules actives sont dotées l'origine des propriétés antioxydantes citées dans cette recherche. De nombreuses études ont démontré que la présence élevée de composés phénoliques dans les champignons augmente le potentiel antioxydant et qu'il existe une corrélation positive entre la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante). (Tamrakar, et al., 2016) (Saltarelli, et al., 2009) (Kozarski, et al., 2012) (Yegenoglu , et al., 2011) (Oke et Aslim, 2010) (Kebaili F. F., 2022)

Habituellement, l'implication des composés phénoliques dans l'élimination des radicaux libres est liée à leur abondance en groupes hydroxyles phénoliques. Ces derniers favorisent l'activité antioxydante en transférant des protons aux radicaux, produisant ainsi des radicaux phénoxydes qui stabilisent les produits alimentaires et pharmaceutiques (Shah, et al., 2018)

Grâce à leurs propriétés antioxydantes, ces biomolécules ont une importance cruciale dans la préservation des denrées alimentaires. Ils participent également aux processus de défense antioxydants des systèmes biologiques et stimulent l'action de neutralisation des radicaux libres ainsi que la chélation des ions métalliques pro-oxydants (Cayan, et al., 2021)

Toutefois, l'absence de flavonoïdes pourrait diminuer l'efficacité de la neutralisation des radicaux libres, ce qui justifie les valeurs modérées obtenues dans cette étude.

5. Activité antibactérienne

Les champignons basidiens, avec leur grande capacité de biosynthèse, représentent une source potentielle intéressante de métabolites antibactériens et antifongiques (Lysakova , et al., 2024). L'activité antibactérienne de divers extraits de *Pholiota carbonaria* a été réalisée par la méthode de diffusion sur gélose d'agar contre trois souches pathogènes (Gram ⁺ et Gram ⁻).

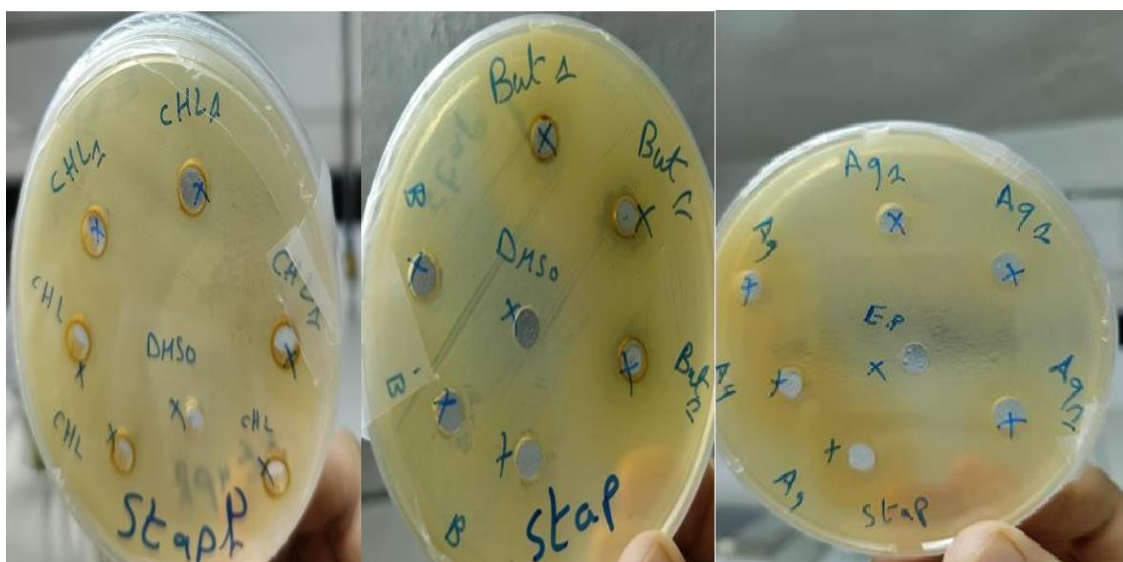
Résultats et discussion

Une activité a été enregistrée par l'Ext-n-But (100mg/mL) avec une zone d'inhibition variant de $(9.67 \pm 1.53 \text{ mm})$ la plus élevée contre *Escherichia coli*. Pour le reste des souches aucune inhibition n'a été remarquée. Les autres extraits n'ont montré aucune d'inhibition.

Tableau 8 : Effet antibactérien des extraits de *Pholiota carbonaria* sur divers isolats de bactéries.

Bactérie	Extraits (100mg/mL) et zones d'inhibition (mm)			
	Ext-Chloro	Ext-AcEt	Ext-n-But	Ext-Aqueux
<i>Escherichia coli</i>	-	-	9.67 ± 1.53	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-

Résultats et discussion

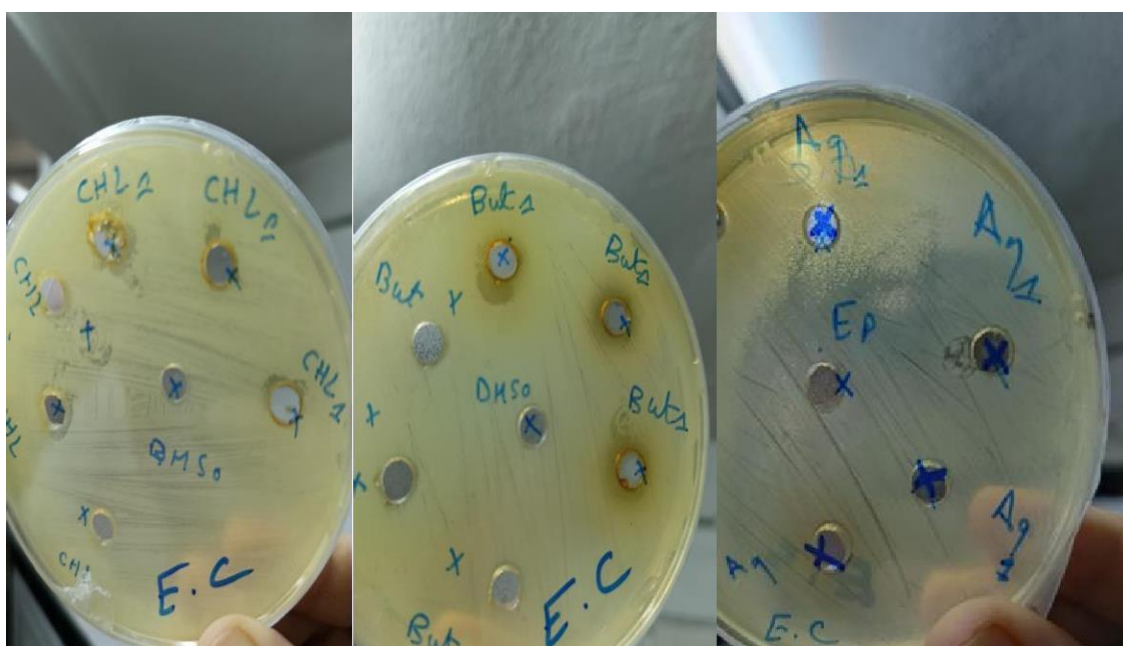


A

B

C

Figure 16 : les resultats de l'activité antibacterienne des extraits (Ext-Chloro(A) ; Ext-n-But(B) ;Ext-Aqueux(C)) contre la bacterie *Staphylococcus aureus*



A

B

C

Figure 17 : les resultats de l'activité antibacterienne des extraits (Ext-Chloro(A) ; Ext-n-But(B) ; Ext-Aqueux(C)) contre la bacterie *Escherichia coli*.

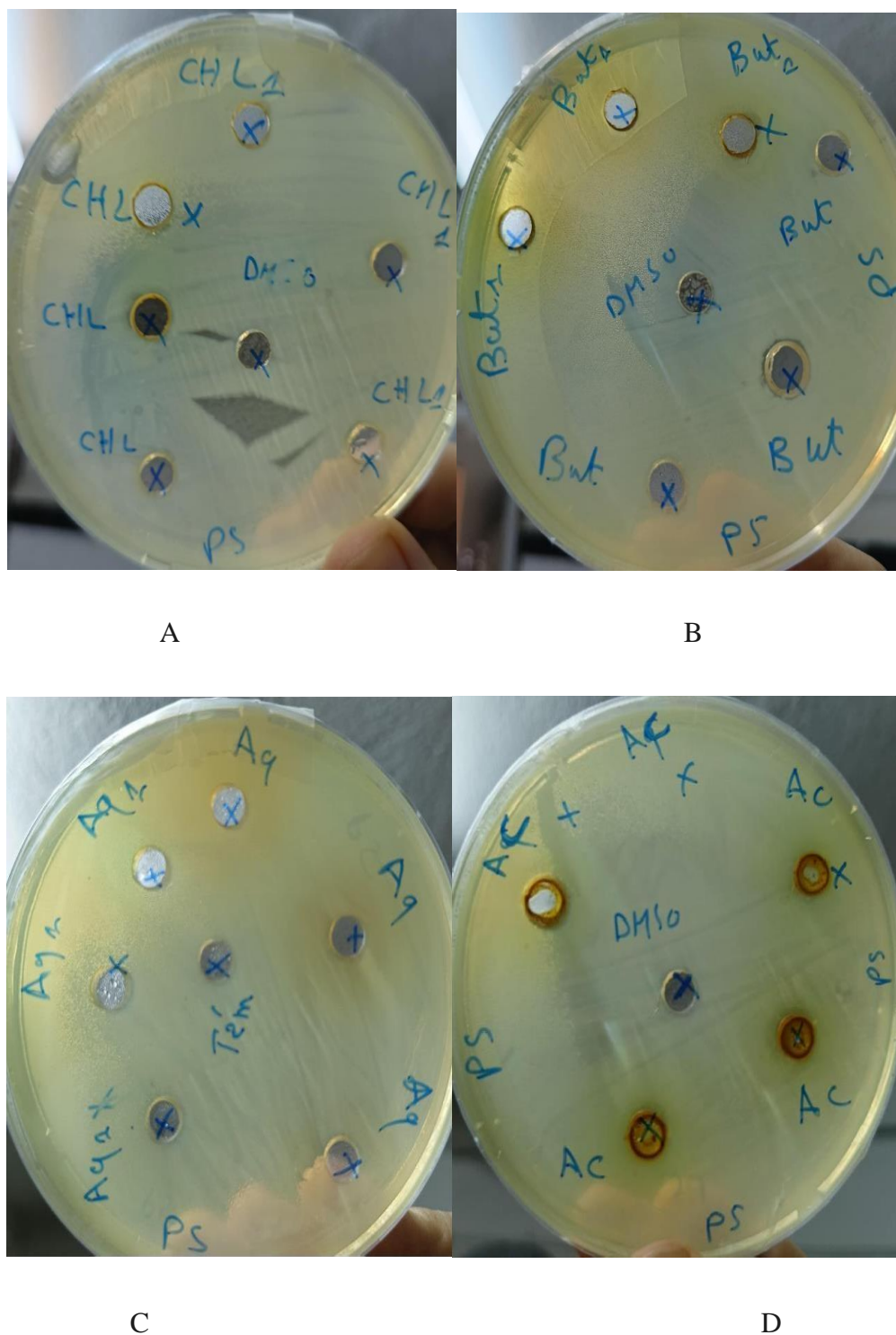


Figure 18 : les resultats de l'activité antibacterienne des extraits (Ext-Chloro(A) ; Ext-n-But(B) ; Ext-Aqueux(C) et Ext-AcEt(D)) contre la bacterie *Pseudomonas aeruginosa*.

Résultats et discussion

Il est évident que les résultats que nous avons obtenus sont moins concluants que ceux présentés par **Kebaili, et al., (2022)**, qui ont testé l'espèce *G. lucidum* contre six souches bactériennes. L'activité antibactérienne la plus élevée de *G. lucidum* a été remarquée avec Ext-Chloro, qui a démontré la zone d'inhibition la plus significative contre *Escherichia coli* ($20,33 \pm 0,57$ mm), suivie de *Pseudomonas aeruginosa* ($13,66 \pm 0,57$ mm), *Staphylococcus aureus* ($12,33 \pm 0,57$ mm), *Staphylococcus aureus* multi-résistante SARM ($11,66 \pm 0,47$ mm), et enfin *Bacillus cereus* et *Klebsiella pneumoniae* ($09,66 \pm 1,52$ mm et $09,66 \pm 1,15$ mm respectivement), tous les extraits ont été préparés à une concentration similaire que nous avons testé.

Il est indéniable que nos résultats sont moins probants que ceux mentionnés par **Sheena, et al., (2008)**, qui ont examiné l'effet antibactérien de l'extrait méthanolique de trois grands champignons polypores : *Phellinus rimosus*, *Ganoderma lucidum* et *Navesporus floccosa*. Ils ont observé que l'espèce *P. rimosus* cultivée en Inde montre une activité significative. Selon leurs travaux, l'extrait de *P. rimosus* a montré une zone d'inhibition moyenne de $18,3 \pm 1,41$ mm pour *B. subtilis* et de $16,3 \pm 0,91$ mm pour *E. coli*.

Nos résultats obtenus présentent manifestement des similitudes avec ceux rapportés par **Sheena, et al., (2008)**, qui ont effectué des tests sur l'espèce *G. lucidum*. Ils ont signalé que l'extrait méthanolique de *G. lucidum* montrait une zone d'inhibition de $10,0 \pm 0,98$ mm pour *E. coli*.

Nos obtenus sont indubitablement inférieures à ceux enregistrés par **Otali, et al., (2024)**. Ces derniers ont réalisé des expérimentations sur les espèces *Pleurotus ostreatus* et *Pleurotus djamor* cultivées au Nigeria, de même qu'avec les souches suivantes : *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. La recherche a révélé que la zone d'inhibition de *P. ostreatus* était respectivement de $1,83 \pm 0,15$ cm pour *Pseudomonas aeruginosa*, $1,70 \pm 0,10$ cm pour *Escherichia coli* et $0,93 \pm 0,15$ cm pour *Staphylococcus aureus* lorsque la concentration d'extrait L'eau chaude était de 100 mg/mL.

Résultats et discussion

Pour ce qui est de l'extrait L'eau aqueux de *Pleurotus djamor*, il a démontré une zone d'inhibition de $2,33 \pm 0,57$ cm contre *Pseudomonas aeruginosa*, $1,93 \pm 0,15$ cm pour *Escherichia coli* et $0,8 \pm 0,10$ cm pour *Staphylococcus aureus*.

Il est évident que nos résultats sont moins importants que ceux obtenus par (Quereshi , *et al.*, 2010), qui ont examiné l'espèce *G. lucidum* contre six bactéries pathogènes humaines de la Collection de Cultures Microbiennes (MTCC) de Chandigarh : *E. coli* (MTCC - 443), *S. aureus* (MTCC-737), *Klebsiella pneumoniae* (MTCC-2405), *Bacillus subtilis* (MTCC -1789), *Salmonella typhi* (MTCC -531) et *P. aeruginosa* (MTCC -779).

L'activité antibactérienne a été déterminée en mesurant la taille de la zone d'inhibition (en mm) obtenue après une incubation à 37 ± 2 °C pendant 24 heures. L'extrait d'acétone obtenu a également démontré une action inhibitrice contre *E. coli* $27,40 \pm 0,19$ mm. Nos résultats ont révélé une similitude avec leur étude, révélant que l'extrait éthanolique de *G. lucidum* a affiché une activité antimicrobienne contre *E. coli* à 10.60 ± 0.28 mm.

Cette activité marquée dans l'Ext-n-But du champignon *Pholiota carbonaria* est due probablement à la nature des molécules actives présentées dans ce dernier, pour mieux comprendre cela, il est important d'identifier et déterminer le type et la structure chimique par des techniques de haute performance comme la chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse (LC-MS), et la purification de ces molécules pour les utiliser dans la production de traitements antimicrobiens.

L'analyse mycochimique de l'extrait brut du champignon *Pholiota carbonaria*, utilisant le système méthanol/eau ; 80/20 v/v, a révélé différents métabolites secondaires bioactifs, tels que les tanins, les phénols, les alcaloïdes, les saponosides, les anthocyanes et les substances réductrices. En revanche, l'existence de flavonoïdes n'a pas été observée. Cette composition laisse présager une forte capacité antioxydante et antimicrobienne, les tanins et phénols étant valorisés pour leur aptitude à neutraliser les radicaux libres, alors que les alcaloïdes sont réputés pour leur impact sur les membranes cellulaires des bactéries. Les saponosides contribuent également à réduire le stress oxydatif, ce qui accentue l'attrait thérapeutique de cet extrait fongique.

Conclusion

Et perspective

Conclusion

Dans le contexte de cette étude, nous avons examiné pour la première fois les caractéristiques biologiques de l'espèce *Pholiota carbonaria*, un basidiomycète qui appartient à la famille des Strophariaceae et qui demeure largement ignoré dans la littérature scientifique.

À travers une extraction progressive utilisant des solvants de polarité croissante (chloroforme, acétate d'éthyle, n-butanol, et eau distillée,), nous avons pu évaluer les propriétés antioxydantes et l'effet antibactérien potentiel de ces extraits, tout en reconnaissant leur profil de métabolites secondaires. De diverses méthodes et procédés ont été appliquées pour atteindre les objectifs déterminés.

Les biomolécules ciblées ont été extraites par une méthode solide-liquide, puis leur composition chimique a été examinée. Pendant ce processus, un criblage chimique sur l'extrait hydrométhanolique obtenu est évalué. Ceci nous permet d'identifier le type de ces molécules, dont certaines classes possèdent une capacité antioxydante démontrée par des réactifs particuliers.

L'évaluation de la concentration totale en polyphénols a montré une quantité remarquable dans les extraits d'acétate d'éthyle ($33,56 \pm 8,21 \mu\text{g EAG/mg}$) et chloroformique ($28,82 \pm 3,77 \mu\text{g EAG/mg}$), alors que les extraits n-butanolique ($5,07 \pm 0,92 \mu\text{g EAG/mg}$) et aqueux ($5,21 \pm 2,24 \mu\text{g EAG/mg}$) ont manifesté des concentrations considérablement inférieures. Par contre, l'analyse des flavonoïdes a révélé une absence complète dans tous les extraits.

Le fait de ne pas détecter de flavonoïdes, mis en évidence par un dosage spécifique et des analyses chimiques, suggère que d'autres groupes de métabolites phénoliques tels que les tanins et anthocyanes identifiés sont vraisemblablement à l'origine de l'activité biologique. L'activité pourrait également être intensifiée par la présence d'autres éléments tels que les saponosides, les substances réductrices et les alcaloïdes.

Nous avons évalué l'activité antioxydante des quatre extraits en utilisant différentes techniques et méthodes, y compris l'analyse antiradicalaire au DPPH et le test du pouvoir réducteur du fer (FRAP). L'activité antioxydante puissante des extraits d'acétate d'éthyle et de chloroforme est attribuée à leur riche teneur en polyphénols. Ainsi, l'extrait d'acétate d'éthyle de *Pholiota carbonaria* révèle une force antioxydante notable.

Conclusion et perspective

Ces résultats établissent *Pholiota carbonaria* comme une source prometteuse de molécules naturelles ayant un potentiel biologique, notamment en ce qui concerne la lutte contre les déséquilibres oxydatifs.

L'étude de l'activité antibactérienne du *Pholiota carbonaria* a révélé un effet d'inhibition restreint, noté uniquement avec l'extrait n-butanolique sur *Escherichia coli*. Même si les autres extraits n'ont montré aucune activité, ces résultats laissent à penser qu'il y a des composés bioactifs spécifiques qui sont solubles dans le n-butanol.

L'étude des extraits de *Pholiota carbonaria* a établi les fondations pour une recherche sur ses propriétés antimicrobiennes. Bien que l'activité constatée soit limitée, cela souligne l'attrait de ce champignon en tant que source potentielle de biomolécules actives.

Perspectives

- ✓ Tester différentes techniques et solvants d'extraction (ultrasons, micro-ondes, solvants verts) pourrait améliorer le rendement en composés bioactifs et augmenter l'efficacité des extraits.
- ✓ Tester les extraits contre un panel plus large de micro-organismes, notamment des bactéries Gram positif, Gram négatif, ainsi que des souches pathogènes multirésistantes, permettrait de mieux évaluer leur potentiel thérapeutique et leur spectre d'action.
- ✓ Il serait pertinent d'étudier l'application des extraits de *Pholiota carbonaria* sur divers modèles cellulaires liés à l'inflammation, tels que les macrophages activés par le LPS, pour mesurer leur influence sur la sécrétion de médiateurs inflammatoires (NO, TNF- α , IL-6, etc.).
- ✓ Réaliser des tests in vivo sur des modèles animaux afin de valider l'efficacité et la sûreté des extraits dans des conditions biologiques concrètes.

Il est aussi très captivant de :

- Analyser des substances actives : Grâce à la LC-MS, qui permet la possibilité d'identifier des substances bioactives précises dans les extraits organiques provenant du champignon. Cela englobe des molécules telles que les polysaccharides, les terpénoïdes, les alcaloïdes, les acides gras et d'autres métabolites qui présentent un potentiel
-

Conclusion

thérapeutique

- Achever l'évaluation du profil nutritionnel et réaliser la détermination des oligo-éléments, en mettant l'accent surtout sur ceux qui ont une propriété antioxydante, tout en mesurant aussi divers autres vitamines.

Références bibliographiques

Bibliographie

A

Achouri Zouaoui, A., & Lahneche, M. A. (2023, 06 22). Etude mycochimique et évaluation de l'activité antioxydante in vitro du champignon comestible *Cyclocybe* sp d'Algérie. mémoire présenter en vue de l'obtention du diplôme de master.

Alexopoulos, C. J., Mims, C. W., & Blackwell, M. (1996). *Introductory Mycology* (4 th ed). Wiley.

Andres Juan, C., Perez de la lastra, J., Plou, F. J., & Peres-lebena, E. (2021, avril 28). La chimie des espèces réactives de l'oxygène (ERO) revisitée : leur rôle dans les macromolécules biologiques (ADN, lipides et protéines) et les pathologies induites. *Revue internationale des sciences moléculaires*, 22(9).

Asatiani, M., Elisashvili, V., Songulashvili, G., & Reznick, A. Z. (2011). Les champignons basidiomycètes supérieurs comme source d'antioxydants. *researchgate*, 311-326.

Azwanida , N. N. (2015). *A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle., Medicinal & Aromatic Plants*, 196.

B

Balaban, R. S., Nemoto, S., & Finkel, T. (2005, février 25). Mitochondries, oxydants et vieillissement. *ScienceDirect*, 120(4), 483-495.

Bibi Sadeer, N., Montesano, D., Albrizio , S., Zengin, G., & Mahomoodally, M. F. (2020, aout 05). Polyvalence des dosages antioxydants en sciences et sécurité alimentaires : chimie, applications, points forts et limites. *pubmed.ncbi*, 9(8), 709.

Bichi, A., & Mosbah, H. (2015). LES ANTIOXYDANTS. 16-25. doi:123456789/7102

Birouk, S., Hadjici, M., & Harrouche, N. (2012). Evaluation du profil de stress oxydatif induit par leDiclof énac et ses dérivés de biodégradation chez la souris. 5-9.

BLOIS , M. S. (1958, avril 26). Déterminations des antioxydants par l'utilisation d'un radical libre stable. *nature*, 1199–1200.

Bouayed , J. (2010, février). Polyphenols: a potential new strategy for the prevention and treatment of anxiety and depression. *Nutrition et sciences alimentaires actuelles*, 6(1), 13-18.

Bouchair, C., Kebir, R., & Mezzane, M. (2022). L'effet antioxydant des plantes médicinales sur le stress oxydatif. 14-18.

Boughellout, M., & Amara, T. (2015, juin 15). les effets protecteurs des plantes médicinales contre le stress oxydant. 19-21.

Boulif, R. (2013). Contribution à l'étude de l'activitéantioxydante des écorces des racines de *Capparis spinosa* L. Récupéré sur 123456789/20335/1/

Boussayoud, M., & Chaibeddra, K. (2021, JUILLET 17). Evaluation de l'activité antioxydante de quelques dérivés ouverts de Cromakalim. 20.

Références bibliographiques

Boutine, Y., & Boukedjane, W. (2021). Supplémentation en antioxydants et risques de cancer. 23.

Brakhage, A. A. (2013). Regulation of fungal secondary metabolism. *Nature Reviews Microbiology*, pp. 21–32.

Bruneton, J. (1993, mai 1). *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*. (T. e. 2nd edition, Éd.) Lavoisier, Paris,

Bull, Acad, & Natle, M. (2006, décembre 05). Des mitochondries aux maladies métaboliques. Séance commune Académie des sciences(9), 1917-1919.

C

Carhart-Harris, R. L., & Goodwin, G. M. (2017). The therapeutic potential of psychedelic drugs: past, present, and future. *Neuropsychopharmacology*, 42(11), pp. 2105-2113.

Caris, C. (2024, septembre 12). Quels sont les aliments les plus riches en polyphénols, des antioxydants puissants ? *santé magazine*.

Cayan, F., Tel- Cayan, G., Deveci, E., Emin Duru, M., & TEL-CAYAN, G. (2021, mai 17). Caractérisation par HPLC–DAD du profil phénolique et des activités antioxydantes, anticholinestérases et antidiabétiques in vitro de cinq espèces de champignons de Turquie. *pmc.ncbi*.

Chenichene, A., Halaci, H., & Zitouni, S. (2014, juin). Évaluation, in vitro, de la toxicité de deux colorants alimentaires par le biais du stress oxydant. 36-38.

Cheung, L. M., Cheung, P. C., & Ooi, V. E. (2003). Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts . *Food chemistry*, 81(2), 249-255.

Cho, S. M., Park, H. J., Seo, G. S., & Lee, J. S. (2006). Extraction yield and nutraceuticals of mushroom *Pholiota* species. *Journal of Mushrooms*, 57–61.

Courtecuisse, R., & Duhem, B. (2000). *Guide des champignons de France et d'Europe*. Delachaux et Niestlé.

Courtecuisse, R., & Duhem, B. (2011). *Guide des champignons de France et d'Europe*.

D

Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Dai, J., & Mumper, R. J. *Molecules*, pp. 7313–7352.

Derbak, L. (2024). Contribution à la valorisation phytochimique, activités antimicrobienne, antioxydante et autres effets biologiques des extraits bioactifs de quelques plantes médicinales. Thèse de doctorat. M'Sila: Université Mohamed Boudiaf .

Djouadi, A. (2012, juin 30). Evaluation de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de deux variétés de *Solanum melongena* L. de la région d'El-Oued par voltampérométrie cyclique et ondes carrées. Consulté le avril 10, 2025

Dröge, W. (2002, janvier). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*, 82(1), 47-95.

Références bibliographiques

Dulta, K., Khongthaw, B., Singh, S., Thakur, A., Koşarsoy Ağçeli, G., & Thakur, K. (2023). *Stropharia rugosoannulata* Farlow ex Murrill (Wine Cap *Stropharia* or Garden Giant). In A. Sharma (Ed.), *Phytochemistry and Nutritional Composition of Significant Wild Medicinal and Edible Mushrooms: Traditional Uses and Pharmacology*. Royal Society of Chemistry.

E

Ela , M. A., El-Shaer , N. S., & Ghanem , N. B. (1996). Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and tixed oll. *Pharmazie*, 993_995.

Elkhateeb, W. A. (2020). What medicinal mushroom can do. *Chem Res J*, 5(1), 106–118.

F

Favier, A. (2003, novembre-décembre). Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *l'Actualité Chimique*(n 270), p108.

Ferreira, I. C., Barros, I., & Abreu, R. M. (2009). Antioxidants in wide mushrooms. *Current Medicinal Chemistry*, p. 1543_ 1560.

Fontaine, E. (2008, janvier 03). Radicaux libres et vieillissement. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 42(2), 110-115. Consulté le 09 avril, 2025.

G

Gerad, M. D., & Chaudiere, J. (1996, JANVIER). [Métabolisme et fonction antioxydante du glutathion]. *PUB MED*, 77-85.

Gürgen, A., Yildiz, S., Kılıç, C., & Can, Z. (2017). Total phenolics, flavonoids, tannin contents and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus* cultivated on different wastes and sawdust. *Gürgen, A., Yildiz, S., Kılıç, C., & Can, Z. International Journal of Secondary Metabolite*, 1–9.

Guzmán, G. (2005). Taxonomic and ethnomycological studies on *Psilocybe* species worldwide. *Revista Mexicana de Micología*, pp. 11–60.

H

Hamadi, N. (2010). Effet du resveratrol sur les défenses antioxydantes chez les rats rendus diabétiques par l'injection de la streptozotocine. 20-22.

Hamma, S. A. (2021). *EXPLORATIONS BIOCHIMIQUES DU STRESS OXYDATIF*. Faculté de Médecine.

Harris, D. C. (2015). *Quantitative Chemical Analysis* (9th ed.). W. H. Freeman and Company.

He, P. X., Geng, L. G., Wang, J. Z., & Xu, C. P. (2012). Production, purification, molecular characterization and bioactivities of exopolysaccharides produced by the wine cap culinary-medicinal mushroom, *Stropharia rugosoannulata*. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, pp. 365–376.

Hu, Y., Kakumyan, P., Bandara, A. R., & Mortimer, P. E. (2021). The nutrition, cultivation and biotechnology of *Stropharia rugosoannulata*. *Fungal Biotech*, 13 _25.

Références bibliographiques

I

Imlay, J. A. (2013, MAI 28). Les mécanismes moléculaires et les conséquences physiologiques du stress oxydatif : leçons tirées d'une bactérie modèle. *revues de la nature sur la microbiologie*, 443–454.

K

Kebaili, F. F. (2022, juillet 13). Bioévaluation du champignon sauvage *Ganoderma lucidum* d'Algérie : Etude des propriétés nutritionnelles et activités Antioxydantes et thérapeutiques. Thèse de Doctorat Université Frères Mentouri Constantine1 Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire.

Kehili, N. (2018). L'effet protecteur d'un antioxydant naturel contre le stress oxydatif induit par le chlorure de cadmium. 6-10.

Khebichat, A. (2013). Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des. Mémoire Master. Tlemcen, Département de Biologie.

Kibby, G. (2017). *Mushrooms and Toadstools of Britain & Europe*.

Kirk, P. M., Cannon, P. F., Minter, D. W., & Stalpers, J. A. (2008). *Dictionary of the Fungi* (10th ed.). CABI.

Kozarski, M., Klaus, A., Nikšić, M., Miroslav, M. V., Todorović, N., Jakovljević, D., & Griensven, L. (2012, mai-juin 2). Activités antioxydantes et caractérisation chimique des extraits de polysaccharides des champignons largement utilisés *Ganoderma applanatum*, *Ganoderma lucidum*, *Lentinus edodes* et *Trametes versicolor*. *Journal de composition et d'analyse des aliments*, 26(1), 144-153.

L

Laessoe, T., & Petersen, J. H. (2019). *Fungi of Temperate Europe*. Princeton University Press.

Lahmar, A., Moussaoui, R., & Tifraten, S. (2022). Effet protecteur du curcuma contre le stress oxydatif.

Lakhal, R. (2011, Juillet 15). Etude de l'effet de l'oxygène sur la physiologie et le métabolisme de la bactérie hyperthermophile anaérobie *thermotoga maritima*.

Lavega, R., Grifoll, V., de las Nieves Siles, M., Bravo, P., Santoyo, S., & Pérez-Clavijo, M. (2023). Comparative Evaluation of Antioxidant Activities in Mycelia, Fruiting Bodies and Spent Mushroom Substrate of Edible Mushrooms.

Lavega, R., Grifoll, V., Paula, B., Margarita, P. C., Santoyo, S., & De Las Nieves Siles, M. (2023, mai 19). Évaluation comparative des activités antioxydantes dans les mycéliums, les fructifications et le substrat de champignons comestibles. *research square*.

Lei, H., Chunmei, H., Can, S., Hongyu, S., & Jun, D. (2023). Nutritional, Bioactive, and Flavor Components of Giant *Stropharia* (*Stropharia rugoso-annulata*): A Review. *Fungi*.

Références bibliographiques

- Leverve , X. (2009, october). Stress oxydant et antioxydants ?Oxydatif, stress et antioxydants ? Cahiers de Nutrition et de Diététique, 44(5), 219-224.
- Leverve, X. (2009, OCTOBER 21). Stress oxydant et antioxydants ?Oxydatif, stress et antioxydants ? Cahiers de Nutrition et de Diététique, 44(5), 219-224.
- Li, X., Zhang, Z., Wang , L., Zhao, H., Jia , Y., Ma, X., . . . Ma , B. (2023). Extraction triphasée de polysaccharides de *Stropharia rugosoannulata* : optimisation du procédé, caractérisation structurale et bioactivités. *Front Immunol*.
- Liang, N., & Kitts , D. D. (2014, november 19). Propriété antioxydante des composants du café : évaluation des méthodes définissant les mécanismes d'action. 19(11).
- Lin, S., Ching, L. T., Ke, X., & Cheung, P. C. (2016). Comparison of the Composition and Antioxidant Activities of Phenolics from the Fruiting Bodies of Cultivated Asian Culinary-Medicinal Mushrooms. *Int J Med Mushrooms*.
- Louchtchak , V. I. (2011, janvier 17). Stress oxydatif induit par l'environnement chez les animaux aquatiques. *Aqua Toxicol*, 101(1), 13-30.
- Lutzoni, F., Moncalvo, J. M., Vilgalys, R., & Redhead, S. A. (2002). Phylogeny of Agarics : partial systematics. *Mycotaxon*, 19-57.
- Lysakova, V., Krasnopolaskaia, L., Yarina, M., & Ziandrova, M. (2024, october 31). Activité antibactérienne et antifongique des métabolites des basidiomycètes. *mdpi*.

M

- Maiche, R., & Benoudina, M. (2020). Le rôle des antioxydants dans la lutte contre le stress. 5-15.
- Markowicz Bastos, D. H., Saldanha, L. A., Catharino, R. R., CHF Sawaya, A., BS Cunha, I., Carvalho, P. O., & Eberlin, M. N. (2007, mars 12). Antioxydants phénoliques identifiés par ESI-MS à partir d'extraits de Yerba maté (*Ilex paraguariensis*) et de thé vert (*Camelia sinensis*). *pubmed.ncbi*, 12(3).
- Messaoudi, S., & Nasri , H. (2021, Juin 28). MÉMOIRE DE MASTER. Valorisation et recyclage des déchets agricoles . Biskra .
- Migdal, C., & Serres, M. (2011, avril 28). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Med Sci*, 27(4), 405-412.
- Mironczuk-Chodakowska, I., Socha, K., Zujko, M. E., Terlikowska, K. M., Borawska , M. H., & Witkowska , A. M. (2019). Cuivre, manganèse, sélénium et zinc dans les champignons comestibles sauvages du territoire oriental des « poumons verts de Pologne » : implications nutritionnelles et toxicologiques. *Revue internationale de recherche environnementale et de santé publique*.
- Moncalvo, J. M., Vilgalys, R., Redhead, S. A., Johnson, J. E., Timothy, Y. J., Aime, M. C., . . . Miller Jr, O. K. (2002). One hundred and seventeen clades of euagarics. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, pp. 357–400.
- Moore, D., Robson, G. D., & Trinci, A. P. (2011). *21st Century Guidebook to Fungi*. Cambridge University Press.

Références bibliographiques

Mourenza, Á., A. Gil, J., Mateos, L. M., & Letek, M. (2020, MAI 28). Antimicrobiens générateurs de stress oxydatif : une nouvelle stratégie pour surmonter la résistance aux antibactériens. PUBMED CENTRAL.

N

Neyrat, P. (2001, juin 28). Vitamine E (tocophérols) et ses rôles. e-sante.fr.

Nobari, H., Saedmocheshi, S., Chung, L. H., Suzuki, K., Perez-Gomez, J., & Maynar-Marino, M. (2021, décembre 25). n aperçu sur la façon dont l'exercice avec la consommation de thé vert peut prévenir la production d'espèces réactives de l'oxygène et améliorer les performances sportives. *Revue internationale de recherche environnementale et de santé publique*, 19(1).

O

Oke, F., & Aslim, B. (2010, juin). Potentiels biologiques et cytotoxicité de divers extraits d' *Origanum minutiflorum* endémique O. Schwarz & PH Davis. *Toxicologie alimentaire et chimique*, 48(6), 1728-1733.

Otali, C. C., Otoikhian, C. S., Onuoha, T., Akpeji, C. S., & Bosah, B. O. (2024, juillet). Antibacterial Activities of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus djamor* Against Selected Bacterial Pathogens. *Bima Journal of Science and Technology*, 8.

Oyaizu, M. (1986). Études sur les produits de la réaction de brunissement Activités antioxydantes des produits de la réaction de brunissement préparés à partir de glucosamine. *Journal japonais de nutrition et de diététique*, 44(6), 307-315.

P

Pham-Huy, L. A., He , H., & Pham-Huy, C. (2008, juin). Radicaux libres, antioxydants dans la maladie et la santé. *Int J Biomed Sci*, 4(2), 89-96.

Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., & Defraigne, J. (1999). L'évaluation du stress oxydatif d'un individu: une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Cœur, Poumons*, 4(5).

Pozdnyakova, N. N., Schlosser, D., Dubrovskaya, E. S., Balandina, S. S., Sigida, E. I., Grinev, V. D., & Turkovskaya, O. V. (2018). The degradative activity and adaptation potential of the litter-decomposing fungus *Stropharia rugosoannulata*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 133.

Q

Quadraccia , & Lunghini. (1990).Récupéré sur mycodb: <https://www.mycodb.fr/fiche.php?espece=highlandensis&genre=Pholiota&utm>

Quereshi, S., Pandey, A. K., & Sandhu, S. S. (2010, janvier). Evaluation of antibacterial activity of different *Ganoderma lucidum* extracts. *People's Journal of Scientific Research*, 3(1).

R

Raudabaugh, D. B., Wells, D. G., Matheny, P. B., Hughes, K. W., Sargent, M., Iturriaga, T., & Miller, A. N. (2021). Observations in vitro des interactions entre *Pholiota carbonaria* et *Polytrichum commune* et leur pertinence environnementale potentielle. *Vie*, 518.

Références bibliographiques

Rayner, A. D., & Boddy, L. (1988). *Fungal Decomposition of Wood: Its Biology and Ecology*. Wiley.

Regoli, F., & Giuliani, M. E. (2014). Voies oxydatives de la toxicité chimique et biomarqueurs du stress oxydatif chez les organismes marins. *Mar Environ Res*.

S

Saltarelli, R., Ceccaroli, P., Iotti, M., Zambonelli, A., Buffalini, M., Casadei, L., . . . Stocchi, V. (2009, september 1). Caractérisation biochimique et activité antioxydante du mycélium de *Ganoderma lucidum* d'Italie centrale. *Chimie alimentaire*, 116(1), 143-151.

Sasidharan, S., Chen, Y., Saravanan, D., Sundram, K. M., & Yoga Latha, L. (2011). Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extract. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 8(1), 1–10.

Sebbar, E.-h., Naji, I., Elmazgueldi, I., & Choukri, I. (2023, avril 25). Le stress oxydatif, une agression cellulaire. *Actualités Pharmaceutiques*, 62(626), 36-37.

Sergent, O., Griffon, B., Cillard, P., & Cillard, J. (2001, OCTOBER 22). Alcool et stress oxydatif. *Pathologie Biologie*, 49(9), 689-695.

Shah, R., Chinonso, I. U., Hazrulrizawati, A., & Oluwaseun, R. A. (2018, september). Évaluation des activités antioxydantes et antibactériennes des tiges de *Flammulina velutipes* et *Hypsizygus tessellatus* (var. blanche et brune) extraites avec différents solvants. *researchgate*.

Sheena, N., Ajith, T. A., Mathew, A., & Janardhanan, K. K. (2008, october 03). Antibacterial Activity of Three Macrofungi, *Ganoderma lucidum*, *Navesporus floccosa* and *Phellinus rimosus* Occurring in South India. *Pharmaceutical Biology*.

Shraim, A. M., Talaat, A. A., Md Mizanur, R., & Hijji, Y. M. (2021, october). Détermination de la teneur totale en flavonoïdes par dosage au chlorure d'aluminium : une évaluation critique. 150.

Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analyse des phénols totaux et d'autres substrats d'oxydation et antioxydants au moyen du réactif folin-ciocalteu. *Méthodes en enzymologie*, 299, 152-178.

Szwajkowska-Michalek, L., Stuper-Szablewska, K., Krzyżaniak, M., & Lakomy, P. (2022). Profil des composés bioactifs présents dans la pourriture du bois sélectionnée. *Forêts*, 1242.

T

Taibur, R., Hosen, I., Mm towhidul, I., & Shekhar, H. U. (2012, november). Le stress oxydatif et la santé humaine. *Progrès en biosciences et biotechnologies*, 997-1019.

Tamrakar, S., Bang Tran, H., Nishida, M., Kaifuchi, S., Suhara, H., Doi, K., . . . Shimizu, K. (2016, juin 4). Activités antioxydantes de 62 champignons sauvages du Népal et profil phénolique de quelques espèces sélectionnées. *pubmed.ncbi*.

Tan, M. C., Tan, C. P., & Ho, C. W. (2013). Tan, M. C., Tan, C. P., & Ho, C. W. (2013). Effects of extraction solvent system, time and. *Int Food Res J*, pp. 3117-3123.

Références bibliographiques

Tavernini, L., Ottone, C., Illanes, A., & Wilson, L. (2020). Entrapment of enzyme aggregates in chitosan beads for aroma release in white wines. Tavernini, L., Ottone, C., Illanes, A., & Wilson, L. (2020) International Journal of Biological Macromolecules, pp. 1082-1090.

Tél, G., Apaydin, M., Duru, M. E., & Öztürk, M. (2011, juillet 29). Activités antioxydantes et inhibitrices de la cholinestérase de trois espèces de *Tricholoma* à teneur totale en phénols et en flavonoïdes : les champignons comestibles d'Anatolie. *link.springer*, 5, 495–504.

Toumi, M. E., Rebai, R., Kebaili, F. F., Meriane, I., Achouri Zouaoui, A., Lahneche, M. A., . . . Necib, Y. (2025). Molecular Phylogenetic and Chemistry Characterization, and In Vitro Evaluation of Antioxidant and Cytotoxicity Potential of *Cyclocybe cylindracea* strain TMES42 (Agaricomycetes) from Algeria. *International Journal of Medicinal Mushrooms*.

W

Wasser, S. (2014). Medicinal mushroom science: Current perspectives, advances, evidences, and challenges. *Biomedical journal*, 37(6), 345-356.

Wasser, S. P. (2011). Current findings, future trends, and unsolved problems in studies of medicinal mushrooms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1323–1332.

William, R. (2013, november 08). Nouvelle stratégie de fonctionnalisation de surfaces d'électrodes à base de sels de diazonium : application aux capteurs à antioxydants. 34-35. Consulté le avril 10, 2025.

X

Xian, W., Zhihui, D., Lian, L., Zhilin, C., Yurong, L., & Shaobin, F. (2024). L'analyse intégrative du transcriptome et du métabolome éclaire la biosynthèse des flavonoïdes dans le corps fructifère de *Stropharia rugosoannulata*. *Fungi*.

Y

Yegenoglu, H., Belma, A., & Oke, F. (2011, mai). Comparaison des capacités antioxydantes de *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst et *Funalia trogii* (Berk.) Bondartsev & Singer en utilisant différentes méthodes in vitro. *pubmed.ncbi J Med Food*, 512-516.

Yu, J., Qilong, Z., Haolan, D., Yongjun, L., Di, G., Xiaodan, H., . . . Ying, Z. (2023). The Nutrients and Volatile Compounds in *Stropharia rugoso-annulata* by Three Drying Treatments. *Foods*.

Z

Zerargui, F. (2015). Activité antioxydante des extraits de racines *Tamus communis* L. et caractérisation des substances bioactives. 17.

Zhang, H., & Tsao, R. (2016, avril). Polyphénols alimentaires, stress oxydatif et effets antioxydants et anti-inflammatoires. *Opinion actuelle en science alimentaire*, 8, 33-42.

Zoltán, B., Dékány, M., Sárközy, A., Kincses, A., Spengler, G., Papp, V., . . . Ványolós, A. (2021). Triterpènes et composés phénoliques du champignon *Fuscoporia torulosa* : isolement, détermination de la structure et activité biologique.

Références bibliographiques

Zone, A. (2025, JANVIER 28). Flavonoïdes : définition, bienfaits et dangers ? AROMA-ZONE.

**Année universitaire 2024 / 2025 Présenté et soutenu par : ARAB Imane
BENADJIBA Ouïam**

Intitulé : Etude mycochimique et évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne in vitro du champignon basidiomycètes *Pholiota carbonaria* d'Algérie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master
Spécialité : Biochimie Appliquée

Résumé

Cette recherche vise à mettre en avant les bienfaits des champignons en Algérie, notamment le « *Pholiota carbonaria* », par l'étude et la caractérisation de leur mycochimie, ainsi que par l'évaluation de leurs activités biologiques. L'analyse mycochimique a mis au jour les métabolites secondaires majeurs, comme les polyphénols et les anthocyanes, ainsi que des alcaloïdes et des tanins.

Elle a étudié l'extraction de ces composés dans des solvants chimiques, à savoir: le système méthanol/eau ; 80/20 v/v. Ensuite, un fractionnement a été réalisé avec les quatre solvants de polarités différentes (l'eau, l'acétate d'éthyle, le chloroforme, le n-butanol).

L'analyse du contenu en polyphénols indique que l'extrait acétate d'éthyle (Ext-AcEt) présente les concentrations les plus élevées en substances bioactives ($33,56 \pm 8,21 \mu\text{g EAG/mg Ext}$). Cela est suivi par les extraits chloroformique, aqueux et butanolique ($28,82 \pm 3,77 \mu\text{g EAG/mg Ext}$, $5,07 \pm 0,92 \mu\text{g EAG/mg Ext}$ et $5,21 \pm 2,24 \mu\text{g EAG/mg Ext}$ respectivement). Le dosage par la méthode d'Aluminium trichlorure a montré l'absence des flavonoïdes dans les extraits.

L'analyse du potentiel antioxydant *in vitro* des quatre extraits via des techniques colorimétriques (DPPH•, FRAP) a démontré une activité antioxydante significative pour tous les extraits. Toutefois, l'extrait qui présente l'activité antioxydante la plus élevée est l'Ext-AcEt, avec une concentration inhibitrice de 50% du DPPH (IC₅₀) de 653,74±31,74 µg/mL et une concentration qui coorespond à une absorbance de 0,5 (C_{A0,5}) de 70,46±6,65µg/mL pour le test FRAP.

L'effet antibactérien, les extraits n'ont pas montré de réaction d'inhibition vis-à-vis des souches testées, sauf pour l'extrait de n-butanolique qui a produit une réponse inhibitrice estimée à environ 9.67 ± 1.53 mm contre la bactérie *Escherichia coli*.

Mots clés : *Pholiota carbonaria*, le potentiel antioxydant *in vitro*, l'effet antibactérien, activités biologiques.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de recherche LGMA- Université Constantine 1 des Frères Mentouri.

-Présidente du jury :	Dr. OUELBANI R	- MCB - UFM Constantine 1
-Rapporteur :	Dr. TOUMI Med Es-Seddik	- MCB - UFM Constantine 1
-Examinatrice :	Dr. AYACHE A	- MCB - UFM Constantine 1